



# VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

## FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

## ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

# STANOVENÍ ZÁKLADNÍCH NUTRIČNÍCH PARAMETRŮ V JEDLÉM HMYZU

DETERMINATION OF BASIC NUTRITIONAL PARAMETERS IN EDIBLE INSECTS

## BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

## AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Jakub Korček

## VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

doc. Ing. Pavel Diviš, Ph.D.

BRNO 2018

## Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1269/2017  
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií  
Student: **Jakub Korček**  
Studijní program: Chemie a technologie potravin  
Studijní obor: Potravinářská chemie  
Vedoucí práce: **doc. Ing. Pavel Diviš, Ph.D.**  
Akademický rok: 2017/18

### Název bakalářské práce:

Stanovení základních nutričních parametrů v jedlém hmyzu

### Zadání bakalářské práce:

1. vypracování literární rešerše k tématu práce
2. provedení analýz obsahu vybraných nutričních látek v jedlém hmyzu
3. zpracování naměřených výsledků

### Termín odevzdání bakalářské práce: 21.5.2018

Bakalářská práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí bakalářské práce.

-----  
Jakub Korček  
student(ka)

-----  
doc. Ing. Pavel Diviš, Ph.D.  
vedoucí práce

-----  
prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.  
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2018

-----  
prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.  
děkan

## **ABSTRAKT**

V tejto bakalárskej práci je diskutovaný nutričný význam vybraných druhov hmyzu. Analyzované vzorky boli červy, cvrčkovia a kobyľky. Analyzované parametre boli: celkový dusík, hrubá bielkovina, celkové lipidy a obsah vybraných prvkov. Celkové tuky boli po homogenizácii stanovené metódou podľa Soxhletha, s použitím diethyléru ako rozpúšťadla. Na stanovenie bielkovín a prvkovú analýzu boli vzorky po homogenizácii mineralizované podľa Kjeldahla s použitím koncentrovanej kyseliny sírovej. Weinigerov katalyzátor bol pridaný len do vzoriek na analýzu bielkovín. Prvková analýza bola prevedená metódou optickej emisnej spektroskopie s indukčne viazaným plazmatom (ICP-OES). Hrubá bielkovina bola stanovená Kjeldahlovou metódou, pričom najvyšší podiel obsahovali cvrčkovia a to  $(75 \pm 5) \%$ . Najvyšší obsah tukov obsahovali kobyľky a to  $(33 \pm 2) \%$ . Bolo tiež zistené, že vzorky sú bohaté na vápnik, draslík, mangán a zinok, čo sú všetko prvky dôležité pre správne fungovanie nášho tela. Výsledky tejto práce dokazujú, že hmyz môže predstavovať nutrične významnú potravinu.

## **ABSTRACT**

In this bachelor thesis is discussed nutritional value of chosen insect species. Analysed samples consisted of worms, crickets and locusts. Analysed parameters were: total nitrogen, crude protein, total lipids and content of chosen elements. Total lipids were, after homogenization, determined by Soxhlet method, using diethyl ether as a solvent. Prior to protein and element determination, samples did undergo Kjeldahl digestion process, using sulfuric acid. Weiniger catalyst was only added to samples digested for protein measurement. Element content was determined by optical emission spectrometry with inductively coupled plasma (ICP-OES). Crude protein was determined by Kjeldahl method. The highest protein content was determined in crickets.  $(75 \pm 5) \%$ . Locusts contained the highest lipid content  $(33 \pm 2) \%$ . We also found out, that samples were rich in calcium, potassium, manganese and zinc, which are all important elements for the proper functioning of our body. The results of this thesis prove, that insects can present nutritionally important food.

## **KĽÚČOVÉ SLOVÁ**

hmyz, bielkoviny, lipidy, prvky, ICP-OES, Kjeldahl, Soxhlet

## **KEYWORDS**

insects, proteins, lipids, elements, ICP-OES, Kjeldahl, Soxhlet

KORČEK, J. *Stanovení základních nutričních parametrů v jedlém hmyzu*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2018. 40 s. Vedoucí bakalářské práce doc. Ing. Pavel Diviš, Ph.D..

## **PREHLÁSENIE**

Prehlasujem, že som bakalársku prácu vypracoval samostatne a že všetky použité literárne zdroje som správne a úplne citoval. Bakalárska práca je z hľadiska obsahu majetkom Fakulty chemickej VUT v Brne a môže byť využitá ku komerčným účelom len so súhlasom vedúceho bakalárskej práce a dekana FCH VUT.

.....  
podpis študenta

## **POĎAKOVANIE**

Touto cestou by som rád poďakoval vedúcemu svojej bakalárskej práce doc. Ing. Pavlovi Divišovi Ph.D. za cenné rady a odborné vedenie počas jej vypracovávania. Ďalej by som sa chcel poďakovať PhDr. Miroslavovi Hrstkovi Ph.D. za pomoc a ochotu pri experimentálnej časti práce. Nakoniec by som sa chcel poďakovať rodine a priateľom za morálnu podporu.

## OBSAH

<b>1</b>	<b>ÚVOD .....</b>	<b>7</b>
<b>2</b>	<b>TEORETICKÁ ČASŤ .....</b>	<b>8</b>
2.1	Historická zmienka .....	8
2.2	Biodiverzita hmyzu .....	8
2.3	Anatómia hmyzu .....	8
2.3.1	Kutikula .....	9
2.3.2	Hlava .....	9
2.3.3	Hrud' (thorax) .....	9
2.3.4	Zadoček .....	10
2.4	Nutrične významné látky .....	10
2.4.1	Bielkoviny .....	10
2.4.2	Lipidy .....	10
2.4.2.1	Mastné kyseliny .....	11
2.4.2.2	Triacylglyceroly .....	11
2.4.3	Sacharidy .....	11
2.4.4	Vitamíny .....	12
2.5	Potenciálne riziká spojené s požívaním hmyzu .....	12
2.5.1	Mikrobiálne riziká .....	12
2.5.1.1	Baktérie .....	13
2.5.1.2	Vírusy .....	13
2.5.2	Chemické riziká .....	13
2.5.2.1	Toxíny .....	13
2.6	Mineralizácia .....	14
2.6.1	Rozklad na suchej ceste .....	14
2.6.2	Rozklad na mokrej ceste .....	14
2.7	Možnosti stanovenia bielkovín .....	15
2.7.1	Kjeldahlova metóda .....	15
2.7.2	Dumasova metóda .....	15
2.7.3	Spektrofotometrické stanovenie Nesslerovým činidlom .....	16
2.7.4	Steinbergerova metóda .....	16
2.7.5	Conwayova metóda .....	16
2.7.6	Stanovenie čistých bielkovín .....	16
2.8	Možnosti stanovenia lipidov .....	16
2.8.1	Stanovenie tukov extrakciou podľa Soxhleta .....	17
2.8.2	Stanovenie tukov extrakciou podľa Folscheho .....	17
2.8.3	Stanovenie tukov extrakciou podľa Röseho a Gottlieba .....	17
2.8.4	Stanovenie tukových čísel .....	17

2.9	Metódy prvkovej analýzy .....	17
2.9.1	Optická emisná spektrometria s indukčne viazaným plazmatom .....	18
2.9.1.1.1	Inštrumentalizácia ICP-OES .....	19
2.10	Stručná charakteristika vybraných prvkov .....	20
2.10.1	Sodík.....	20
2.10.2	Draslík .....	20
2.10.3	Vápnik .....	20
2.10.4	Horčík.....	20
2.10.5	Fosfor .....	21
2.10.6	Meď .....	21
2.10.7	Mangán.....	22
2.10.8	Zinok .....	22
2.10.9	Železo .....	22
<b>3</b>	<b>PRAKTICKÁ ČASŤ .....</b>	<b>24</b>
3.1	Použité vzorky.....	24
3.2	Použité laboratórne vybavenie, pomôcky a prístroje .....	24
3.3	Použité chemikálie .....	24
3.4	Roztoky .....	25
3.4.1	Stanovenie hrubej bielkoviny .....	25
3.4.2	Prvková analýza .....	26
3.5	Mineralizácia.....	26
3.6	Stanovenie hrubej bielkoviny podľa Kjehladala .....	27
3.7	Prvková analýza .....	27
3.7.1	Stanovenie makroprvkov (Ca, K, Mg, Na, P) .....	27
3.7.2	Stanovenie mikroprvkov (Cu, Zn, Mn, Fe).....	28
3.8	Stanovenie celkových lipidov podľa Soxhleta .....	28
<b>4</b>	<b>VÝSLEDKY A DISKUSIA .....</b>	<b>29</b>
4.1	Stanovenie hrubej bielkoviny .....	29
4.2	Stanovenie celkových lipidov .....	30
4.3	Prvková analýza .....	31
<b>5</b>	<b>Záver.....</b>	<b>36</b>
<b>6</b>	<b>ZOZNAM POUŽITÝCH ZDROJOV .....</b>	<b>37</b>
<b>7</b>	<b>ZOZNAM POUŽITÝCH SKRATIEK.....</b>	<b>40</b>

# 1 ÚVOD

Prevažná väčšina ľudí západnej Európy považuje hmyz za niečo odpudivé a nevie si predstaviť jeho konzumáciu. Vo východnej Európe, Afrike a iných krajinách to ale nie je nič zvláštne. Tento druh výživy by mohol mať pre nás obrovské výhody, nakoľko sú niektoré kúsky považované nielen za chutné, ale obsahujú aj veľké množstvo nutrične bohatých látok, hlavne bielkovín. Zdá sa však že západné krajiny začínajú prekonávať svoj odpor, nakoľko sa dopyt po tomto type potravy u nás zvyšuje.

Hmyz tvorí veľmi významnú časť ekosystému, zastupuje viac ako polovicu všetkých živých organizmov na Zemi. Je súčasťou potravinového reťazca, včely poskytujú med, opelňujú rastliny, červy zase kompostujú zem, iní hubia škodcov. Našťastie sa hmyz, ktorý je pre ľudský život nepostradatelný (nie ako potravina) konzumuje len veľmi ojedinele. Na prvý pohľad sa môže javiť ako nevyčerpatelný zdroj potravy, opak je však pravdou, niektoré druhy sú až na pokraji vyhynutia.

Podľa legislatívy Európskej únie č. 2015/2283, ktorá začala platiť 1.1.2018 sa hmyz resp. jeho časti radí medzi tzv. nové potraviny, predtým nebol považovaný za potravinu. Do tejto skupiny patria všetky potraviny, ktoré neboli vo významnej miere používané k ľudskej spotrebe v Európskej únii pred 15.5.1997. Mimo iné sú v legislatíve uvedené konkrétne požiadavky, ktoré musia byť splnené, aby mohla byť potravina uvedená na Európsky trh. V Českej republike je tiež pripravovaná novela legislatívy.

Táto bakalárska práca sa venuje stanoveniu nutričných parametrov v jedlom hmyze. Konkrétne bude zisťovaný obsah dusíku, hrubej bielkoviny, tukov a bude prevedená prvková analýza.

## 2 TEORETICKÁ ČASŤ

### 2.1 Historická zmienka

Počiatky využívania hmyzu ako potravy, teda entomofágie, boli už v prehistorických dobách, keď si lovci a zberači bobúľ spestrovali stravu drobnými pochúťkami. Prvá písomná zmienka pritom pochádza z obdobia ôsmeho storočia pred našim letopočtom, z východnej Európy, kdes a kobyľky na paliciach považovali za delikatesu. V západnej Európe zase podľa historických záznamov jedli ako prví hmyz Gréci okolo 4 storočia pred našim letopočtom. Do západnej Európy sa však entomofágia dostala až v 19. storočí [2,5].



Obrázok 1: Rôzne druhy hmyzu na predaj na ulici v Bangkoku, Thajsko<sup>2</sup>

### 2.2 Biodiverzita hmyzu

Za posledných 250 rokov bolo objavených, resp. popísaných a zaznamenaných v rôznych publikáciách na celom svete asi niečo cez milión druhov hmyzu. Presné číslo je nejasné, nakoľko niektoré druhy sa za „nové“ označia z dôvodu nepozornosti alebo ignorácie viac krát a na Zemi ešte stále existujú nepreskúmané oblasti. Popísané druhy sú nerovnomerne rozdelené do rôznych rodov, pričom 5 z nich vyčnieva nad ostatnými, kvôli ich počtu. Sú to chrobáky (Coleoptera); muchy (Diptera); osy, mravce a včely (Hymenoptera); motýle a mole (Lepidoptera) a pravý hmyz (Hemiptera). Pričom druhy ôs predstavujú asi 40% všetkých druhov hmyzu [3,4].

### 2.3 Anatómia hmyzu

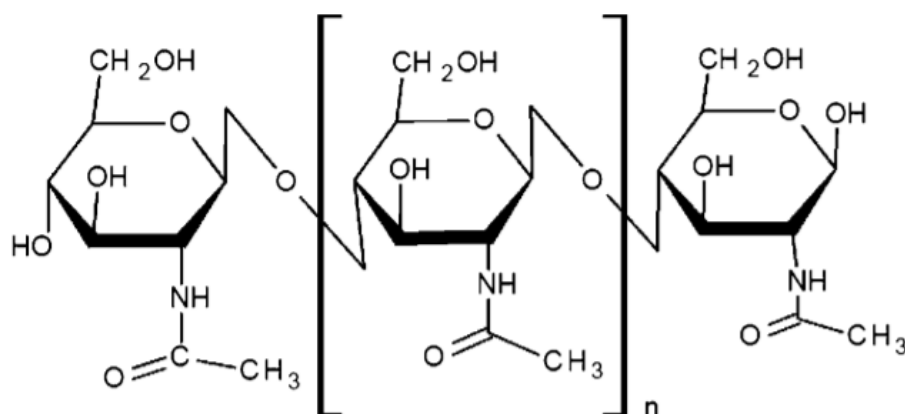
Z anatomického hľadiska sú všetky druhy hmyzu členovce, ktoré majú kĺbový exoskelet. Ich telo sa skladá z niekoľkých častí, konkrétne ide o hlavu, hrud' a zadoček. U lariev môže byť toto členenie neúplné. V niektorých prípadoch môžu byť hlava a hrud' skoro rovnaké články, ale nejedná sa o hlavohrud'. Skupiny sú rozdeľované podľa odlišností exoskeletu. Napríklad Hexapoda (rod) je charakteristický tým, že dospelé jedince majú 6 nôh. Rozdiely medzi jednotlivými druhmi sú však väčšinou menej očividné. Z hľadiska pochopenia toho, ako druhy lietajú alebo prijímajú potravu je nutné poznať štruktúru ich tela [4].



### 2.3.1 Kutikula

Je to vonkajšia vrstva, ktorá udržuje silný exoskelet (vonkajšiu kostru), končatín, krídel a funguje ako ochranná bariéra medzi prostredím. V mikroskopickom merítku je kutikula tvorená tracheálnymi trubicami. Vlastnosti kutikuly sú odlišné medzi druhmi a tiež v rôznych vývojových štádiách jedného druhu. U včiel je napríklad v dospelosti tvrdá a hrubá ale v štádiu larvy mäkká a úzka. Pričom tieto vlastnosti sú spôsobené jej chemickým zložením. Jednou z jej hlavných zložiek je biopolymér chitín. Je to nevetvený polysacharid, zložený z N-acetyl-D-glukosamínových zvyškov pospájaných  $\beta(1,4)$  glykozidovými väzbami. Chemickou štruktúrou je veľmi podobný celulóze. Molekuly chitínu sú v kutikule zhlukované do pohyblivých mikrofibríl. Celková odolnosť tejto vrstvy je spôsobená vodíkovými mostíkmi medzi chitínovými reťazcami [3,4,14].

**Kutikulárna sklerotizácia**, je významný chemický proces v období dospievania hmyzu, pri ktorom dochádza k nereverzibilnej premene niektorých častí kutikuly na tvrdšiu a tuhšiu hmotu, odolnejšiu voči enzymatickej degradácii [4].



Obrázok 2: časť chitínového reťazca<sup>15</sup>

### 2.3.2 Hlava

Vznikla zrastením pôvodne šiestich článkov. Na čele môžu byť jednoduché oči, po stranách sú zpravidla veľké zložené oči, obsahujúce množstvo malých očí, tzv. omatidií. Rozoznávame tri formy hlavy hmyzu:

1. Prognátna – hlava smeruje dopredu v ose tela ústnymi orgánmi nasmerovanými dopredu
2. Hypognátna – hlava smeruje dole, kolmo k ose tela
3. Opistognátna – hlava smeruje v ostrom uhle dozadu pod telo

Na hlave sa nachádzajú tykadlá, ktoré sú dôležitým zmyslovým orgánom, pričom ich prvý článok je najväčší a ako jediný obsahuje svaly umožňujúce pohyb. U lariev môžu chýbať. Základným typom ústnych orgánov sú kusadlá, ktorých tvar je veľmi variabilný [3,4].

### 2.3.3 Hrud' (thorax)

Obyčajne pozostáva z troch častí: prothorax, mesothorax a metathorax. U niektorých okrídlených druhov je mesothorax a metathorax zväčšený a tvoria pterothorax, na ktorom sú umiestnené krídla. Na hrudi sa nachádzajú mohutné svaly, ktoré pohybujú končatinami [3].

### 2.3.4 Zadoček

Skladá sa z jedenástich článkov. Niekoľko prvých článkov býva spravidla premenených, nakoľko spájajú zadoček a hrud'. Posledné články zase môžu byť uspôsobené na rozmnožovanie. Je to najmä väčšia časť celého tela. Dýchacia sústava je tvorená systémom vzdušnic, čo sú jemné trubice vedúce vzduch od dýchacích otvorov k jednotlivým vnútorným orgánom. Hmyz má otvorený obehový systém, krv prúdi jedinou chrbtovou cievou smerom k hlave, kde okysličuje mozog a zbytok orgánov je hemolymfou voľne obmývaný. Vylučovaciu sústavu tvoria tzv. malpighické žľazy, napojené na tráviacu trubicu. Nervová sústava je tvorená mozgom a reťazcom uzlín [4].

## 2.4 Nutrične významné látky

Do tejto skupiny môžeme zaradiť obrovské množstvo bioaktívnych látok. V tejto časti sa budem sústreďovať na 4 hlavné triedy, teda bielkoviny, sacharidy, tuky a vitamíny. Sú to látky, ktoré sú nenahradiiteľnou súčasťou stravy každého človeka. Do skupiny látok s označením nutričné však môžeme zaradiť aj niektoré látky nebiologickej povahy [1].

### 2.4.1 Bielkoviny

Sú to vysokomolekulárne látky, z chemického hľadiska biopolyméry L- $\alpha$ -aminokyselín spojených peptidovými väzbami. Ich molekulová hmotnosť je v rozmedzí niekoľko tisíc až milión Daltonov. Ako proteín sa označuje polypeptid, ktorý obsahuje viac ako 50 aminokyselín. Bielkoviny živých systémov sú zložené z 20(21) kódovaných aminokyselín. Ostatné, nekódované aminokyseliny sú zložené zo zvyškov ktoré boli chemicky modifikované posttranslačne. Rozlišujeme štyri úrovne štruktúry:

**Primárna štruktúra** je určená poradím aminokyselín v polypeptidovom reťazci. Tieto sú viazané peptidovou väzbou, čo je väzba medzi karboxylovou skupinou jednej aminokyseliny a aminovou skupinou druhej. Za zmienku stojí ešte tvorba disulfidických mostíkov medzi dvoma aminokyselinami cysteinu, ktoré primárnu štruktúru stabilizujú.

**Sekundárna štruktúra** určuje konformáciu bielkoviny. Je tvorená nekovalentnými väzbami, vodíkovými mostíkmi a rozlišujeme 2 typy:  $\alpha$ -helix a  $\beta$ -skladaný list. Helix má rigidnú vláknitú štruktúru a vzniká stočením polypeptidového reťazca do pravotočivej dvojzávitnice. Skladaný list vzniká prepojením paralelných resp. antiparalelných odlišných polypeptidových reťazcov.

**Terciárna štruktúra** je tiež tvorená nekovalentnými väzbami (elektrostatické, Van Der Waalsove atď.) a určuje priestorovú konformáciu bielkoviny.

**Kvartérna štruktúra** majú len veľmi zložité bielkoviny. Určuje finálne usporiadanie proteinových podjednotiek v priestore. Podjednotky môžu byť prepojené kovalentne aj nekovalentne [1].

### 2.4.2 Lipidy

Sú to prírodné látky, rozpustné v nepolárnych rozpúšťadlách (hexan, petrolether, chloroform). Do tejto triedy biomolekúl patrí veľa látok, ktoré sa od seba môžu značne líšiť v štruktúre. V živých systémoch majú veľa dôležitých úloh, niektoré fungujú ako zložky biomembrán, iné ako zásobárne energie [1,16].

Lipidy môžeme rozdeliť do nasledujúcich základných tried:

1. Mastné kyseliny a ich deriváty
2. Triacylglyceroly
3. Vosky

4. Fosfolipidy
5. Sfingolipidy
6. Glykolipidy
7. Isoprenoidy

#### **2.4.2.1 Mastné kyseliny**

Mastné kyseliny sú z hľadiska výživy najvýznamnejšou zložkou lipidov. Sú to vlastne karboxylové kyseliny s alifatickým uhlíkovým reťazcom, avšak táto definícia nepokrýva všetky MK nachádzajúce sa v lipidoch. Napríklad kyselina octová nie je prítomná v prírodných lipidoch, ale v priemyselných výrobkoch obsahujúcich tuk sa nachádzať môže. Niektoré mastné kyseliny môžu byť cyklické, aromatické. V potravinách obsahujúcich lipidy sa môžu nachádzať ich rôzne skupiny. Sú to nasýtené MK (neobsahujú dvojné väzby, každý uhlík je nasýtený vodíkmi), nenasýtené MK (obsahujú jednu alebo viac dvojných väzieb) a mastné kyseliny s trojnými väzbami a rôznymi substituentmi (dusíkaté, sírne substituenty). Medzi najrozšírenejšie nasýtené MK patria kyselina stearová a palmitová, ktoré sa vyskytujú hlavne v živočíšnych a rastlinných lipidoch vo forme triacylglycerolov a fosfolipidov. Obsah nenasýtených MK v živočíšnych tukoch je v rozmedzí 50-70 %. Najvýznamnejším zástupcom je kyselina olejová [16,11].

#### **2.4.2.2 Triacylglyceroly**

Sú to estery glycerolu s tromi molekulami vyšších mastných kyselín. TAG môžeme rozdeliť na tuky (vysoký podiel nasýtených MK) a oleje (vysoký obsah nenasýtených MK). TAG v živých systémoch zabezpečujú ochranu pred nízkymi teplotami, fungujú ako zásobáreň energie. V prírode sa vyskytujúcich TAG obsahujú alifatické reťazce MK obyčajne 16,18 alebo 20 uhlíkov [16].

#### **2.4.3 Sacharidy**

Sú to opticky aktívne polyhydroxyderiváty karbonylových zlúčenín. Nachádzajú sa vo všetkých živých organizmoch a majú veľa dôležitých funkcií. Slúžia ako zdroje energie (hlavne glukóza), súčasť rôznych enzýmov, hormónov, nukleových kyselín, sú zdrojom uhlíka pre syntézu bunecných zložiek, niektoré sú štruktúrne zložky buniek (chitin, celulóza, glykany) atď.. Sacharidy môžeme rozdeliť do troch hlavných skupín a ďalších podtried, pričom mono a oligosacharidy súborne označujeme ako cukry:

1. Monosacharidy (zložené len z jednej molekuly sacharidu)
  - podľa počtu uhlíkov: triózy, tetrózy, pentózy atď.
  - podľa ketónovej alebo aldehydovej skupiny: ketózy, aldózy
2. Oligosacharidy (zložené z 2 – 10 monosacharidových jednotiek)
  - podľa počtu monosacharidových jednotiek: disacharidy, trisacharidy atď.
  - podľa výskytu voľnej poloacetálovej skupiny: redukujúce, neredukujúce
3. Polysacharidy (zložené z viac ako 10 monosacharidových jednotiek)

Hydroxylová skupina je vysoko reaktívna. Vďaka otáčavosti uhlíkových väzieb môže dôjsť k adícii hydroxylovej skupiny na oxoskupinu tej istej molekuly. Vzniká tak cyklická štruktúra s názvom pyranóza resp. furanóza. Uzavretím kruhu vzniká nové centrum chiralít, čo nám umožní rozlišovať dve konformačné izoméry, anoméry. Vo vodnom roztoku sú obe anomerné formy sacharidov v rovnováhe. Tomuto javu sa hovorí mutarotácia. Hydroxylová skupina nachádzajúca sa na anomernom uhlíku môže reagovať s hydroxylovou skupinou inej molekuly a vzniknú glykozidickej väzby [1,16].

#### 2.4.4 Vitamíny

Je to veľmi početná skupina látok, ktorej názov je síce celosvetovo uznávaný ale je trochu zavádzajúci, nakoľko prvý objavený vitamín bol chemicky amín, a podľa neho bola táto skupina pomenovaná Vit-amin. Dnes však už vieme že nie všetky vitamíny sú amíny. Pričom chemicky aj metabolicky sú jednotlivé vitamíny veľmi odlišné. Nutrične tvoria skupinu látok, ktoré sú pre telo v malých dávkach nepostradateľné. Pri nedostatku sa môžu objaviť rôzne zdravotné problémy. Niektoré vitamíny však vykazujú podobné biologické vlastnosti, čo je spôsobené tým, že sú enzymaticky degradované na rovnaké produkty. Na to aby sa určitá zlúčenina mohla nazývať vitamínom, musí byť dokázané, že je pre správne fungovanie ľudského tela nevyhnutná. Pričom hlavným parametrom pri posudzovaní je to, či danú látku naše telo dokáže samo syntetizovať, prípadne či je schopné ho vytvoriť v dostatočnej miere, na pokrytie fyziologických požiadaviek. Niektoré vitamíny fungujú ako enzýmy a koenzýmy. Môžeme ich rozdeliť do dvoch hlavných skupín, tie ktoré sa rozpúšťajú vo vode a tie, ktoré sú nerozpustné [9].

Analytické stanovenia vitamínov v potravinách je často náročná úloha, nakoľko v kontraste s bielkovinami, tukmi sa tu nachádzajú v oveľa nižších koncentráciách. Taktisto sú to látky veľmi náchylné na oxidáciu a niekedy aj na svetelné žarenie. Vzhľadom na heterogenitu vitamínov je možnosť stanovenia celkových vitamínov nejakou univerzálnou metódou vylúčená. Existuje však niekoľko chromatografických metód, ktoré vedia stanoviť viac vitamínov dohromady [11].

#### 2.5 Potenciálne riziká spojené s požívaním hmyzu

Konzumácia hmyzu môže so sebou prinášať rôzne riziká, či už enviromentálne alebo zdravotné. So zvyšujúcim sa dopytom bolo nutné zvýšiť produkciu hmyzu, vďaka čomu vznikli chovné stanice. V menej rozvinutých častiach niektorých krajín však ešte stále existujú ľudia, ktorých prácou je zber a predaj hmyzu určeného na konzumáciu ľuďmi. Samozrejme takýto „zberači“, vo väčšine prípadov nemajú o hmyze žiadne znalosti, čo významne poškodzuje jeho biosystém, nakoľko nevedia v akých štádiách je vhodné hmyz zbierať. V jednej dedine v Mexiku (Hidalgo) bol v roku 2006 robený výskum, ktorý zistil, že nevhodným zberom obyvateľov dediny je 14 druhov hmyzu na pokraji vyhynutia [17]. Ďalším rizikovým faktorom je samozrejme to, že na staniciach vedú chovatelia dôkladne monitorovať podmienky života jedincov, čo však vo voľnej prírode možné nie je. Preto je riziko nákazy rôznymi patogénnymi organizmami väčšie [5].

##### 2.5.1 Mikrobiálne riziká

Pri potenciálnych mikrobiálnych rizikách spojeným s požívaním hmyzu, je nutné rozlišovať medzi dvoma typmi. Mikroorganizmy, ktoré sa prirodzene nachádzajú v tráviacej sústave a potom tie, ktoré sa do organizmu dostanú počas života hmyzu. Problémom pri chove na staniciach je to, že produkty tráviaceho traktu môžu nakaziť patogénmi ostatné jedince, nakoľko v tráviacom trakte môžu byť tieto mikroorganizmy prospešné pre organizmus, ale za stresových podmienok sa stanú patogénnymi. Samozrejme, MO potenciálne škodlivé pre hmyz nemusia byť nebezpečné pre ľudský organizmus [5].

Vhodnou úpravou hmyzu pred konzumáciou sa dá eliminovať väčšina mikrobiálnych hrozieb. Tieto úpravy zahŕňajú okrem konzervačných zákrokov ako suché mrazenie aj takmer nevyhnutnú úpravu pred konzumáciou. Riziko nákazy je prirodzene vyššie v krajinách, kde hmyz nie je pred konzumáciou správne upravený [5].

### 2.5.1.1 Baktérie

Mikrobiálna flóra hmyzu obsahuje rôzne druhy baktérii, konkrétne sú to rody *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Bacillus*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Escherichia*, *Micrococcus*, *Lactobacillus* a *Acinetobacter*. Patogénne baktérie hmyzu sú však všeobecne považované za neškodné pre ľudí a iné zvieratá, nakoľko sú hostujúce organizmy fylogeneticky veľmi odlišné. Potenciálne nebezpečie teda predstavujú hlavne baktérie, ktoré sa prirodzene v hmyze nenachádzajú ale nadobudne ich počas života (podmienky chovu) [5].

### 2.5.1.2 Vírusy

Hmyz obsahuje veľké množstvo patogénnych vírusov, väčšina je však pre ľudí a zvieratá neškodná, nakoľko sú veľmi taxonomicky špecifické a účinne sa dokážu replikovať len v jednotlivých rodoch. Bývajú preto hlavným problémom pre chovateľov, nakoľko môžu viesť k úhynu celých kolónií. V niektorých prípadoch však jedince vystupujú ako prenášače vírusov ohrozujúcich ľudí. Týmto vírusom sa hovorí arbovírusy u ľudí spôsobujú rôzne zdravotné problémy (horúčka), účinne sa dokážu replikovať hlavne v komároch, kliešťoch.

## 2.5.2 Chemické riziká

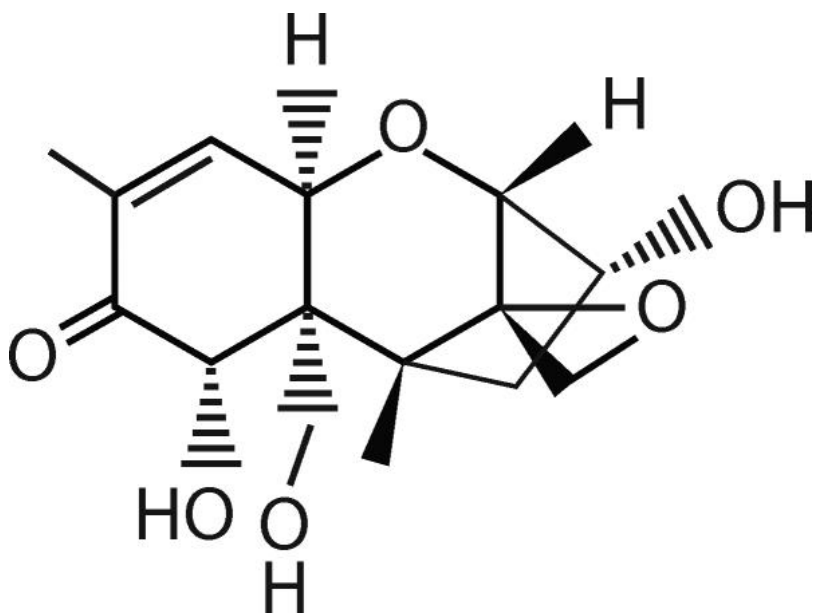
Tak ako produkty zvierat, ktoré každodenne konzumujeme, aj hmyz môže obsahovať rôzne škodlivé látky nebiologickej povahy. Najproblematickejšie sú látky, ktoré si zachovávajú svoju toxicitu aj po tepelnom zákroku.

### 2.5.2.1 Toxíny

Hmyz môže obsahovať rôzne toxíny, ktoré si buď prirodzene syntetizuje, alebo sa do neho dostanú zo substrátu (ťažké kovy, dioxíny, mykotoxíny a iné). Niektoré toxické látky sa stávajú neškodnými počas varenia. Jedovatý hmyz môžeme rozdeliť do dvoch skupín, phanerotoxický a kryptotoxický. Phanerotoxický má orgány na predanie a syntézu jedu (mravce, včely), pričom ich jedy sa obyčajne v tráviacom trakte inaktivujú a kryptotoxické, ktoré nemajú orgány schopné toxin predať a sú pre náš organizmus jedovaté len po konzumácii [5].

Zaujímavý je pokus Sarah Van Broekhovenovej z Holandskej univerzity Wageningen (2014). Jej cieľom bolo zistiť, či sa do lariev červov z rodu *T. molitor* môže zo substrátu (pšenice) dostať jedovatý mykotoxín deoxynivalenol. Testované boli tri skupiny lariev na substráte obsahujúcom rôzne koncentrácie DON a jeho derivátov po dobu 14 dní. Výsledky však ukázali, že larvy dokážu DON účinne metabolizovať a teda ani jeho zvýšené dávky nepredstavujú zdravotné riziko pre ľudí [6].

**Deoxynivalenol**, je mykotoxin prirodzene produkovanými hubami z rodu *Gibberella Zeae*, ktoré často napadajú kukuricu, pšenicu, jačmeň, ryžu a ďalšie obilniny. U ľudí sa akútna otrava prejavuje vracaním, hnačkou, horúčkou, bolesťami hlavy. Chemicky je to polárna, organická látka patriaci medzi tzv. trichotecény typu B. Za svoju toxicitu vďaka trom voľným hydroxylovým skupinám. Obzvlášť vysoké obavy z neho vyvoláva to, že je vysoko stabilný až do teploty 350 °C, takže tepelnou úpravou sa jeho biologická aktivita nemení [7].



Obrázok 3: Deoxynivalenol<sup>7</sup>

## 2.6 Mineralizácia

Mineralizácia je proces, pri ktorom sa zo vzorky odstráni voda a organický podiel. Je to nutný prvý krok, pri stanovení minerálnych látok vo vzorke. V niektorých výnimočných prípadoch je ju možné vynechať. Samotné prevedenie mineralizácie závisí od účelu analýzy. Pokiaľ nás zaujímajú jednotlivé zložky minerálnych látok, je výhodnejšie použiť mokrý spôsob mineralizácie. Ak stanovujeme množstvo a alkalitu popola, potom je vhodnejší suchý spôsob [11] [18].

### 2.6.1 Rozklad na suchej ceste

Pri suchom roklade sa vzorka najprv vysuší, zuhoľnatí v porcelánovom alebo kremíkovom tégliku a žíha od 500 °C do 900 °C. Žíha sa až do zisku bieleho, prípadne sivobieleho popola. Podľa jeho obsahu, resp. alkality sa posudzuje akosť niektorých výrobkov. Na zníženie strát prchavých zložiek popola pri žíhaní sa pridáva chlorid hlinitý. Suchá mineralizácia býva spravidla veľmi zdĺhavá, preto sa jej rýchlosť môže ovplyvniť prídavkom oxidačných činidiel, napríklad peroxidu vodíka, prípadne sa do žihacích pecí môže privádzať prúd kyslíka [11] [18].

### 2.6.2 Rozklad na mokrej ceste

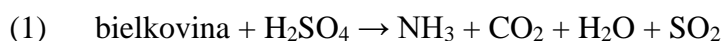
Pri mineralizácii mokrou cestou obvyčajne prebieha spaľovanie v zmesi kyseliny dusičnej a sírovej, prípadne len jednej z nich, pri teplote varu kyseliny. Čistota kyselín musí byť vysoká, aby sa nimi nezvyšoval obsah minerálnych látok vo vzorke. Rozklad je možno urýchliť zvýšením teploty varu, prídavkom síranu draselného a vhodným katalyzátorom (oxid meďnatý, ortuť, selen), alebo zvýšením tlaku. Prebieha v Kjeldahlových bankách, vo vysoko účinných prístrojoch. Vzorky s vyšším obsahom vody je najprv nutné vysušiť. Pri mineralizácii sa tvoria dymy oxidov dusíka s síry, ktoré dráždia dýchacie cesty, preto je nutné zabezpečiť odsávanie pár. Správne zmineralizovaná vzorka musí byť číra [11] [18].

## 2.7 Možnosti stanovenia bielkovín

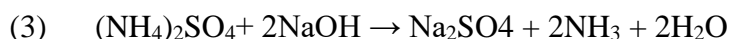
Metódy stanovenie bielkovín môžeme rozdeliť do dvoch základných skupín. Prvá skupina je vhodná pre stanovenie bielkovín v zmesi s inými zložkami potravín, druhá na stanovenie proteínov v čistých bielkovinových preparátoch. Pri analýze potravín sú častejšie využívané metódy prvej skupiny, sú rýchle, spoľahlivé a majú zaručovať dobrú reprodukovateľosť výsledkov. Pre prvú analytickú orientáciu o obsahu bielkovín v potravinách je postačujúce stanovenie celkového obsahu dusíku. Tento obsah je vyjadrený tzv. hrubou bielkovinou. Zahrňuje v sebe však aj dusíkaté látky nebielkovinovej povahy. Spresnenie toho obsahu sa dosiahneme stanovením tzv. čistej bielkoviny. Tieto metódy eliminujú prítomnosť nízkomolekulárnych dusíkatých látok vo vzorke. V nasledujúcich odsekoch sú uvedené dve dnes najpoužívanjšie metódy, ktoré sú založené na odlišných princípoch [11].

### 2.7.1 Kjeldahlova metóda

Táto metóda sa na stanovenie bielkovín v potravinách používa najčastejšie. Patrí do prvej skupiny metód, teda jej výsledkom je len približná predstava o obsahu bielkovín vo vzorke. Prvým krokom je mineralizácia podľa Kjeldahla, popísaná v bode 2.6.2. V aminokyselinách prítomný dusík vo forme iminoskupiny aj aminoskupiny takýmto spôsobom prevedieme na síran amonný.



V nasledujúcom kroku sa zo síranu amonného uvoľní amoniak 30% roztokom NaOH podľa rovnice:



Toto sa prevádza v Parnas-Wagnerovom destilačnom prístroji, kde je amoniak predháňaný vodnou parou. Amoniak sa jímá do predlohy, ktorá obsahuje definovaný nadbytok kyseliny sírovej. V predlohe opäť dochádza k reakcii č.2. Prebytok kyseliny sa potom stanoví titračne (alkalimetricky) štandardizovaným roztokom hydroxidu sodného na indikátor metylčerven alebo Tashiro.



Po odčítaní prebytku kyseliny z celkového množstva vypočítame obsah dusíku. Ten prepočítame na obsah hrubej bielkoviny vynásobením faktorom. Potom obsah dusíku prepočítame na obsah hrubej bielkoviny vynásobením faktorom 6,25. Toto je univerzálny faktor, vedľa ktorého bolo navrhnutých veľa iných, v závislosti na druhu potraviny [11].

### 2.7.2 Dumasova metóda

Princípom je zahrievanie vzorky v kremennej trubici s oxidom meďnatým v prúde oxidu uhličitého, pričom produkty sa vedú vrstvou rozžhaveného CuO. Dôjde k úplnej oxidácii organickej látky na oxid uhličitý, vodu, elementárny dusík a oxidy dusíku, ktoré sú potom redukované na elementárny dusík na vrstve rozžhavenej medi. Dusík sa spolu s ostatnými plynými produktami jímá do plynomernej byrety (azotometru) obsahujúcej 40 % roztok hydroxidu draselného. V ňom sú absorbované všetky kyselé produkty oxidácie. Objem dusíku sa jednoducho odčíta zo stupnice [8].

Napriek tomu, že Dumasova metóda je známa už od roku 1831, teda vyše 50 rokov pred objavením Kjeldahlovej metódy bola KM až donedávna dominantnou. Až pred približne desiatimi rokmi začala postupne prichádzať do popredia, vďaka objavom v oblasti technológie analyzátoru dusíka pre suché spaľovanie. Hlavnou nevýhodou KM je nemožnosť

prevedenia niektorých skupín obsahujúcich naviazaný dusík na amoniak. Medzi takéto skupiny patria nitrily, nitráty, oximy, nitro a nitroso zlúčeniny. DM je však schopná uvoľniť dusík aj z týchto väzieb. Vo väčšine prípadov teda získame Dumasovou metódou o niečo vyššie výsledky ako Kjeldahlovou [8,11].

### **2.7.3 Spektrofotometrické stanovenie Nesslerovým činidlom**

Táto metóda je vhodná na stanovenie bielkovín v potravinách s menším obsahom dusíku. Je založená na tom, že dusík viazaný v bielkovinách sa reakciou s kyselinou sírovou, za použitia peroxidu vodíka ako kazalyzátora prevedie na amonnú soľ, ktorá sa stanoví spektrofotometricky po reakcii s Nesslerovým činidlom v alkalickom prostredí. Obsah dusíka sa zistí z kalibračnej krivky, po vynásobení faktorom 6,25 zistíme obsah hrubej bielkoviny [11].

### **2.7.4 Steineggerova metóda**

Metóda sa používa hlavne na stanovenie bielkovín v mlieku. Najprv sa vzorka zneutralizuje odmerným roztokom NaOH na fenolftaleín, potom sa prídavkom formaldehydu zablokuje pôsobnosť voľných amino skupín a po premiešaní sa opakovane titruje odmerným roztokom 0,25 M NaOH. Druhá spotreba je tzv. aldehydové číslo, ktoré udáva obsah bielkovinného dusíka (1 ml NaOH = 0,0758 g bielkovinného dusíka). Výsledok sa vynásobí faktorom 6,38, tak zistíme obsah bielkovín [11].

### **2.7.5 Conwayova metóda**

Táto metóda je vhodná na stanovenie malých množstiev bielkovín v potravinách. Používa sa špeciálna Conwayova nádobka, ktorá je rozdelená na vnútorný a vonkajší priestor. Vzorka sa najprv mineralizuje podľa Kjeldahla, potom sa roztok amonnej soli vo vonkajšom priestore zalkalizuje nasýteným roztokom  $K_2CO_3$ . Uvoľnený amoniak sa absorbuje v kyseline boritej, umiestnenej vo vnútornom priestore. Obsah dusíka sa vypočíta podľa spotreby odmerného roztoku HCl na titráciu do červenej farby [11].

### **2.7.6 Stanovenie čistých bielkovín**

Pre presnejšiu predstavu o obsahu bielkovín v potravinách je možné vyvráť čisté rozpustné bielkoviny pôsobením niektorých látok. Používa sa napríklad tanín, kyselina trichloroctová, alkalický roztok síranu meďnatého. Tanínová metóda je najpoužívanejšia, nakoľko dáva dobre reprodukovateľné výsledky. Ostatné dve metódy majú nevýhodu v tom, že sa vyvráťajú aj časť voľných aminokyselín [11].

## **2.8 Možnosti stanovenia lipidov**

Pri analýze potravín nám často stačí určiť len celkové množstvo lipidov. V takom prípade môžeme použiť niektoré jednoduché metódy štandardizované na príslušný materiál, alebo zvolíme nejakú fyzikálnu metódu. Medzi najznámejšie patrí Soxhletova, Folscheho, Grossfeldova, Röseho a Gottlieba [13].

Pokiaľ však chceme stanoviť zloženie lipidovej fázy, je nutné použiť šetrnejšie extrakčné postupy, následne sa extrakt frakcionuje chromatografickými metódami. Nakoniec sa zloženie určí vhodnými mikrometódami. Pre analýzu vzorkov obsahujúcich nízky obsah vody a veľa neutrálnych lipidov je najpoužívanejšou metódou extrakcia podľa Soxhletha s použitím hexanu alebo petroletheru ako rozpúšťadla [11,13].



### **2.8.1 Stanovenie tukov extrakciou podľa Soxhleta**

Jedná sa asi o najviac používanú metódu fungujúcu na princípe tzv. solid-liquid extrakcie. Soxhletov extraktor bol objavený v roku 1879, pričom využitie našiel pri stanovení tukov v mlieku. Používajú sa buď extraktory podľa Soxhleta alebo prístroje pre kontinuálnu extrakcie, napr. podľa Twisselmannu. Každá technika má svoje výhody. Problémom pri kontinuálnej extrakcii môže byť to, že kondenzujúce rozpúšťadlo môže vytvoriť určitý kanál menšieho odporu pri prechode organickou látkou, čo spôsobí, že extrakcii bude vystavená len malá časť vzorky a po krátky čas. Pri extrakcii podľa Soxhleta je však organický materiál v každom cykle kompletne obmývaný rozpúšťadlom [10,13].

V prvom kroku postupu sa vzorka rozdrť v trecej miske, odváži a vloží do extrakčnej patrony. Tá sa vloží do extraktoru, ku ktorému sa pripojí banka so zábrusom (zvážená) a napojí sa spätný chladič. Do extraktoru sa naleje nepolárne rozpúšťadlo, ktoré začne zahrievaním vo vodnej lázni vriieť. Je dôležité vždy uviesť použité rozpúšťadlo, nakoľko sa výsledky pri použití iných líšia. Po ukončení extrakcie sa z banky na vodnej lázni oddestiluje rozpúšťadlo a po vysušení sa zváži [11,13].

### **2.8.2 Stanovenie tukov extrakciou podľa Folscheho**

Táto metóda je vhodná hlavne pri stanovení celkových lipidov vo vzorkách s vyšším obsahom vody a polárnych lipidov. Hlavne teda potraviny živočíšneho pôvodu (mäso). V tomto prípade prídavok metanolu k extrakčnému činidlu umožní kvantitatívnu extrakciu lipidov, ktoré sú viazané na bielkovinné podiely. Princípom je, že sa materiál zhomogenizuje, vyextrahuje zmesou chloroformu a metanolu, nerozpustené podiely sa odstránia filtráciou a strhnuté nelipidické podiely sa vyextrahujú vodou [11].

### **2.8.3 Stanovenie tukov extrakciou podľa Röseho a Gottlieba**

Metóda je vhodná na stanovenie celkových tukov vo vzorkách obsahujúcich vyšší obsah vody, lipoproteínov a sacharidov, teda hlavne v mlieku, syrovátke, podmáslí. Najprv sa bielkoviny mlieka rozpustia v amoniaku, tuk sa vyextrahuje ethanolom, diethyléterom a petroléterom. Po odstránení rozpúšťadiel sa stanoví vázkovo. K lepšiemu rozlíšeniu vrstiev sa môže pridať vodný roztok kongočervni. Na stanovenie sa používa špeciálne extrakčné zariadenie [11].

### **2.8.4 Stanovenie tukových čísel**

Tukové čísla sa stanovujú, pokiaľ nás zaujíma obsah určitých funkčných skupín v prítomných lipidoch. V dnešnej dobe má praktický význam už len číslo kyselosti (kritérium kvality suroviny a zmien pri technologickej spracovaní) a jodové (kontrola výsledkov plynovej chromatografie). Chromatografické metódy sú dnes dominantné, nakoľko poskytujú oveľa detailnejšiu informáciu o stanovovanom materiáli [11].

## **2.9 Metódy prvkovej analýzy**

Najrozšírenejšie metódy na prevedenie prvkovej analýzy sú spektrofotometrické. Pri interakcii žiarenia určitej energie s atómami môže dochádzať k jeho pohlteniu, alebo po dodaní dostatku energie (napr. zahriatím na vysoké teploty) k emisii. Atómy môžu absorbovať alebo emitovať len žiarenie s určitými pevne danými vlnovými dĺžkami, ktoré odpovedajú energii absorbovaných (emitovaných) fotónov. Vieme, že atómy môžu existovať v rôznych energetických stavoch, pri absorpcii (emisii) diskretných energetických kvánt dochádza k prechodu medzi jednotlivými hladinami.

Energia atómov v rôznych energetických hladinách je určovaná hlavne tým, v akých energetických hladinách sa nachádzajú jeho elektróny. Za normálnych podmienok sa atóm nachádza v základnom stave, kde všetky elektróny obsadzujú najnižšie energetické hladiny. Energiu na preskok elektrónov na vyššie hladiny môžeme dodať rôznym spôsobom (absorpcia elektromag. žiarenia, zahriatie, elektrickým výbojom), pričom potom hovoríme o excitácii. Pri emisii žiarenia sa atóm zbavuje prebytku energie, ktorú vyžiari vo forme fotónu. Emisné spektrá sú bohatšie na čiary ako absorpčné, pretože môže dôjsť k viacerým prechodom.

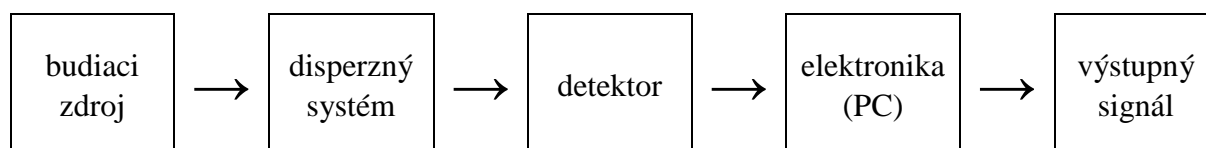
Pri analytickom využití týchto metód sa v zásade stretávame so štyrmi princípmi zmeny kvantovej energie atómov. Je to samovolné vyžarovanie (atómová emisná spektrometria), absorpcia žiarenia (atómová absorpčná spektrometria), sekundárna emisia (atómová fluorescenčná spektrometria), vynútená emisia (laser ako zdroj žiarenia). Použitelnosť jednotlivých metód závisí hlavne na skúmanom materiáli a na tom, aké prvky chceme stanoviť [12,13,33].

### 2.9.1 Optická emisná spektrometria s indukčne viazaným plazmatom

Metóda je založená na registrovaní fotónov vzniknutých prechodmi válenčných elektrónov z vyšších energetických stavov na nižšie. Emisné spektrum je tvorené čiarami, ktoré tvoria série. Do týchto sérií sú zahrnuté návraty elektrónov zo všetkých vyšších energetických hladín. Umiestnenie čiary vypovedá o kvalite a intenzita čiary o kvantite. Význam spektrálnych čiar vychádza z Bohrovej teórie o štruktúre atómu, ktorá hovorí, že atóm obsahuje určité množstvo diskretných energetických hladín, ktoré odpovedajú elektrónovým orbitalom okolo jadra atómu [33,12].

Vzťah medzi absorpciou a emisiou popisuje Kirchhofov zákon, ktorý hovorí, že každý atóm môže absorbovať len tie vlnové dĺžky, ktoré je tiež schopný emitovať, v skutočnosti však musíme počítať aj s Boltzmanovým rozložením, ktoré popisuje obsadenie energetických stavov v závislosti na teplote. Je jasná, že emisná spektrálna analýza vyžaduje oveľa vyššie teploty, aby bola vyššia pravdepodobnosť existencie elektrónu vo vyššom energetickom stave. Vysoká teplota má však negatívny vplyv na analýzu, nakoľko dochádza k zakázaným preskokom (zrážkové procesy). Vznikajú tiež ióny, ktoré majú vlastné emisné čiary. Preto je emisné spektrum bohatšie na čiary ako absorpčné. Keďže je celková emitovaná intenzita rozdelená medzi väčší počet čiar sú emisné techniky vždy menej citlivé ako absorpčné. Základná schéma optického emisného spektrometra je uvedená na obrázku č.3 [33,12].

Budenie plazmatom funguje na princípe, že ak zahrievame látku v plynnom skupenstve, dochádza k jej atomizácii, ionizácii až nakoniec prejde do stavu plazmy. Tento stav hmoty sa definuje ako ionizovaný plyn obsahujúci dostatočnú koncentráciu elektricky nabitých častíc. Aby sa uskutočnil prechod na plazmu, musí byť dodaná energia vyššia ako ionizačná. Metóda má veľa výhod oproti klasickej plameňovej fotometrii, nakoľko sa dá plazmou excitovať aj ťažko excitovateľné atómy a teda stanoviť viac prvkov [33].



Obrázok 4: Základná schéma OES (bez zmlžovača) <sup>33</sup>

Medzi najpoužívanejšie budiace zdroje patrí: plameň, elektrický oblúk, riadený elektrický oblúk, elektrická iskra, rotačná grafitová elektróda, plazmové budenie alebo netermické

budenie. Líšia sa nielen dosahovanou teplotou ale aj množstvom iných analyticky významných parametrov.

Disperzné zariadenia sú väčšinou tvorené mriežkou, alebo hranolom a sadou čočiek a zrkadiel, ktorých úlohou je zmeniť polychromatické žiarenie na monochromatické a fokusovať ho na detektor.

Ako detektor sa väčšinou používajú fotoelektrické detektory (fotonásobič, diodové detektory). V minulosti sa používali aj fotografické dosky [33,12].

#### **2.9.1.1.1 Inštrumentalizácia ICP-OES**

V praxi sa ICP-OES používa predovšetkým na analýzu kvapalných vzoriek pričom postup je nasledovný. Kvapalná vzorka je privádzaná (väčšinou) peristaltickým čerpadlom do zmlžovača, kde časť vzorky odchádza do odpadu (ťažké kvapky) a časť je zmiešaná s nosným plynom (väčšinou argón) a dopravená do plazmovej hlavice. Dochádza ku spáleniu, excitácii elektrónov a následnej deexcitácii. Žiarenie uvoľnené pri deexcitácii je filtrované optickým systémom. Intenzita tohoto žiarenia je nakoniec snímaná opticky citlivým detektorom [12].

Existuje viacero typov **zmlžovačov**. Pneumatické zmlžovače so sacím účinkom, bez sacieho účinku, ultrazvukové a tepelné. U ultrazvukových vzniká aerosol kmitaním keramickej piezoelektrickej dosky, na ktorú je privádzaná vzorka. Pri tomto zmlžovači je ale nutná desolvatácia, nakoľko je účinnosť zmlžovania príliš vysoká. Tepelné zmlžovanie využíva rýchleho ohrevu nad bod varu rozpúšťadla v tenkej kapiláre, tu je tiež nutná desolvatácia [33].

Po zmlžení je vzorka vo forme aerosolu odvedená do **budiaceho zdroja**. Používa sa indukčne viazaná plazma (ICP) v plazmovej hlavici. Plazma vzniká prenosom vysokofrekvenčného prúdu do prúdu plynu, pričom prvý ionizačný impulz sa dodá z Teslovho induktoru. V plazmovej hlavici sú tri toky plynu. Prostrednou trubicou prúdi argon transportujúci aerosol do plazmatu, medzi injektorom a strednou trubicou prúdi vnútorný plazmový plyn, do vonkajšieho medzikružia je privádzaný tangenciálne vonkajší plazmový plyn, ktorý chladí plazmovú hlavicu [33].

Dôležitý parametrom určujúcim vynikajúce vlastnosti ICP je tvar plazmatu. Vhodnými podmienkami je možné doceliť toho, že plazma ma tzv. toroidný tvar. V prstenci je najvyššia teplota, až 10 000 K. Vzorka je situovaná prevažne v centre a vyparuje sa do teplejších oblastí [33].

Úlohou **optického systému**, je rozložiť polychromatické žiarenie na viacero monochromatických lúčov, z ktorých je vybraný ten správny. Všeobecne sa optický spektrometer skladá zo vstupnej štrbiny, systému čočiek alebo zrkadiel, disperzného prvku a výstupnej štrbiny. Existuje viacero usporiadaní, pričom u sekvenčných prístrojov je najbežnejšie usporiadanie Czerny – Turner. Špeciálnym typom disperzného zariadenia sú tzv. echelle monochromátory [33].

**Detektory** slúžia na zaznamenanie elektromagnetického žiarenia a zosilnenie signálu, aby bolo počítač schopný údaj vyhodnotiť. Asi najpoužívanejším typom sú fotonásobiče. Skladajú sa z fotokatódy a serií dynód. Žiarenie dopadajúce na fotokatódu z nej uvoľní fotolektróny, ktoré sú vplyvom elektrického poľa urýchlené a narazia do prvej dynody, z ktorej uvoľnia ďalšie elektróny. Odtiaľ putujú k ďalšej dynóde a tak ďalej, až nakoniec narazia na anódu, kde nameráme prúd. Ďalším používaným typom detektorov sú tzv. CCD detektory (charge-coupled devices), menej používané sú CID detektory (charge-injection devices) [12].

## 2.10 Stručná charakteristika vybraných prvkov

Pre správne pochopenie nutričného významu stanovovaných prvkov je nutné ich stručne popísať z biochemického a anorganického hľadiska.

### 2.10.1 Sodík

V živých systémoch sa s ním stretávame hlavne v súvislosti s tzv. sodno-draselnou pumpou, čo je asi najrozšírenejší typ aktívneho prenášača v našom tele, ktorý sa nachádza v bunecnej membráne. Jeho funkciou je prenášať sodík do extracelulárneho priestoru a draslík do intracelulárneho proti koncentračnému gradientu. Prenášané sú 3 moly sodíka proti 2 molom draslíka, čo má zásadný význam pri vzniku a šírení elektrického signálu v nervových a svalových bunkách. Nedostatok sodíka v organizme môže mať psychické účinky, napríklad spôsobuje anhedóniu, čo je forma depresie, nechuti k fyzickej aktivite [22].

Sodík patrí do skupiny vysoko reaktívnych prvkov, alkalických kovov. Je to monoizotopický prvok. V prírode sa vykytuje len v zlúčeninách, z ktorých asi najznámejšou je chlorid sodný. Sodík taktiež dobre vedie elektrinu a teplo. Vyrába sa elektrolýzou taveniny 40 % chloridu sodného a 60 % chloridu vápenatého pri 580 °C. Prakticky sa využíva vo forme zliatiny s olovom k výrobe tetraethylplumbu (antidetónátor do palív pre výbušné motory) [20].

### 2.10.2 Draslík

Jeho vlastnosti, či už biologického alebo anorganického charakteru sú veľmi podobné sodíku, je to tiež alkalický kov. Je striebrobiely, neušlachtilý a má malú hustotu. Priemyselne sa vyrába redukciou roztaveného chloridu draselného sodíkom. Draslík je rádioaktívny, ale polčas rozpadu jeho izotopu je tak dlhý, že jeho relatívna atómová hmotnosť sa príliš nemení [20].

### 2.10.3 Vápnik

Na prvý pohľad sa nemusí zdať z hľadiska živých organizmov zaujímavý, bol však veľmi dôležitý počas evolúcie. Z počiatku ho prokaryotické organizmy spolu so sodíkom považovali za vnútrobunecný jed, preto sa mohol prejavovať len na povrchu buniek, pričom tu pomáhal spevňovať stenu bunky. Keď sa potom začali vyvíjať eukaryotické bunky obsahujúce rôzne oddelenia, cytoplazmatický Ca gradient fungoval ako komunikácia medzi týmito oblasťami v bunke. Pričom sa pravdepodobne stal vhodným na túto funkciu z dôvodu ľahkého vzniku jeho dvojmočného kationu a tiež veľkej reaktivity (reaguje  $10^3$  krát rýchlejšie ako  $Mg^{2+}$ ). Používa sa na opravu poškodených, zlomených kostí [23].

Chemicky patrí do skupiny alkalických zemín, pričom je to piaty najrozšírenejší prvok v zemskej kôre, ochotne tvorí nerozpustné soli s organickými aj anorganickými iónmi. Využíva sa vo forme rôznych anorganických zlúčenín, ako napríklad vápno, sádra. Čistý makrokryštalický uhličitan vápenatý sa nazýva islandský vápenec a jeho znečistené formy sú mramor, krieda. Často je súčasťou kremičitanových a fosforečnanových minerálov. Priemyselne sa vyrába elektrolýzou roztaveného chloridu vápenatého. Používa sa do zliatin ako redukčné činidlo, aj do stavebných hmôt (vápno, cement) [20][21].

### 2.10.4 Horčík

Horčík je pravdepodobne tým najvšestrannejším kovovým kationom, ktorý môžeme nájsť v živých systémoch. Vystupuje ako kofaktor enzýmov. V bunecných stenách sú  $Ca^{2+}$  spolu s  $Na^+$  potrebné na redukovanie silných odpudivých síl pôsobiacich medzi negatívne nabitými

fosfátovými skupinami lipidov. Taktiež sa viaže na ATP, z dôvodu aktivácie ATP na špecifickú fosfátovú hydrolýzu. Tiež vystupuje ako kofaktor v enzymatickej a ribozomálnej DNA a RNA replikácii a transkripcii. Jeho interakcia s porfyrinovým kruhom v chlorofyle má nezanedbateľnú úlohu v procese fotosyntézy [19].

Horčík sa nachádza v 2. skupine PSP ale svojimi vlastnosťami sa od ostatných prvkov tejto skupiny značne odlišuje. Najviac analógie existuje so zlúčeninami lithnými a zinečnatými. V prírode je horčík šiestym najrozšírenejším prvkom. Nachádza sa tu hlavne vo forme silikátov a spinelov. Je to striebrobiely mäkký, ťažný a kujný kov s nízkou mernou hmotnosťou. Na vzduchu sa horčík na povrchu pokrýva vrstvičkou oxidu zabraňujúcemu ďalšej korózii. Priemyselne sa získava elektrolyzou taveniny bezvodého chloridu horečnatého. Používa sa ako súčasť ľahkých zliatin v leteckom a automobilovom priemysle a ako redukčné činidlo pri výrobe iných kovov [21].

### 2.10.5 Fosfor

Fosfor je biogénny prvok, nevyhnutný pre existenciu života. V bunkách sa podieľa na troch hlavných funkciách. Vo forme fosfolipidov je súčasťou bunečnej steny, tvoriaci ich polárnu časť. Tiež tvorí štruktúru DNA a RNA, tvorbou väzby medzi dvomi susednými pentózami. Je súčasťou ATP, čo je koenzym prevažne zodpovedný za vnútrobunečný energetický transport. Fosfor sa tiež nachádza v sklovine zubov, kostiach, šľachách a chrupavkách. Vo forme minerálu hydroxylapatitu ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)(\text{OH})_2$ ), vďaka čomu sú tieto štruktúry tak odolné a silné. Predpokladá sa, že osteoporóza v staršom veku, je z časti spôsobená nedostatkom fosforu [24][25].

Fosfor je svojim obsahom približne 1120 ppm jedenástym prvkom v poradí výskytu hornín zemskej kôry, jeho kolobeh v prírode je ovplyvnený tým, že neexistujú žiadne jeho tekavé zlúčeniny, ktoré by prostredníctvom atmosféry cirkulovaly. Prírodný fosfor je monoizotopický, umelo pripravený rádioaktívny izotop sa používa pri sledovaní reakčných mechanizmov a vnútrotelovom ožarovaní. Tvorí väčší počet alotropických modifikácií. Biely fosfor je biela voskovitá samozápalná látka s charakteristickým zápachom, je najmenej stály a je jedovatý. Červený fosfor vzniká zahrievaním bieleho v inertnej atmosfére. Je podstatne menej reaktívny ako biely a v bežných rozpúšťadlách je nerozpustný. Čierny fosfor sa pripravuje zahrievaním červeného pod tlakom, je najmenej reaktívny a tiež je to polovodič. Fosfor sa priemyselne vyrába z fosforečnanu vápenatého v elektrických peciach redukciou uhlíkom s použitím piesku. Väčšina vyrobeného fosforu sa spaľuje na oxid fosforečný, ktorý je východnou surovinou pre výrobu kyseliny fosforečnej a fosforečnanov (hnojivá) [20][21].

### 2.10.6 Meď

Meď sa už v minulosti používala vo forme masť na liečenie bolesti kĺbov a svalov, ale až nedávno sa zistila jej nepostradateľná úloha pri raste a správnom fungovaní živých organizmov. V našom tele je súčasťou cytochrom c oxidázy, enzemu tyrozinázy, potrebného pre tvorbu melanínu, proteínu plastocyanínu, ktorý je súčasťou fotosyntetického aparátu rastlín a rias. Je tiež dôležitá v spojovacích tkanivách, hlavne v elastine. Celkový dopad meďi na náš organizmus ešte stále nie je úplne preskúmaný ale niektoré štúdiá spájajú jej nedostatok s vážnymi chorobami ako ateroskleróza a rakovina [27].

Obsah meďi v zemskej kôre je asi 68 ppm, v prírode sa vyskytuje hlavne vo forme zlúčenín so sírou (kovelín, chalkopyrit). Je to ušľachtilý kov a má teda dobrú elektrickú a tepelnú vodivosť. Priemyselne sa meď vyrába pražením chalkosinu ( $\text{Cu}_2\text{S}$ ) na vzduchu, čím sa čiastočne prevedie na oxid meďný, ktorý potom so sulfidom meďným poskytne kovový

produkt. Svoje uplatnenie nachádza med' v elektrotechnike ako katalyzátor, ale predovšetkým vo svojich zliatinách. Je to bronz, mosadz, košťantan a Dewarova zliatina [21].

### 2.10.7 Mangán

Mangán spolu so železom boli na počiatku evolúcie najdôležitejšími kovmi vystupujúcimi v prvých redoxných reakciách. Zakomponovanie  $Mn^{2+}$  do porfyrinových kruhov u prvých rias viedlo ku vzniku komplexov nutných pre fungovanie fotosyntézy. V našom tele ho môžeme nájsť ako súčasť rôznych enzýmov, napr. v oxalacetát dekarboxyláze. Pyruvát karboxyláza u hydiny je zložená zo štyroch podjednotiek, pričom každá obsahuje jeden  $Mn^{2+}$ . Mangán tiež zohráva dôležitú metabolickú úlohu pri raste kostí, reprodukcii a vývoji vnútorného ucha [25].

Tento prvok je dvanástym najrozšírenejším v zemskej kôre. Je to neušľachtilý kov, ktorý sa dobre rozpúšťa v kyselinách aj zásadách. Jeho hlavným zdrojom sú sekundárne usadeniny oxidov a uhličitanov. Dôsledkom zvetrávania sa vyplavujú koloidné častice oxidov kovov spolu s manganom, kde sa zhľukujú do tzv. manganových guľčiek, pokrývajúcich dno oceánov. Priemyslovo sa čistý mangán dá vyrobiť elektrolýzou chloridu alebo síranu manganatého, väčšinou sa však vyrábajú jeho zliatiny so železom, nazývané ferromangany alebo zrkadlovina (rozdiel je v obsahu mangánu). Zliatina manganin sa používa k výrobe elektrických odporov [20][21].

### 2.10.8 Zinok

Zinok sa prirodzene nachádza vo forme katiónu v karboxypeptidáze A, enzýmoch glykolýzy a niektorých proteázach a izomerázach. Zaujímavým  $Zn^{2+}$  enzýmom je alkohol dehydrogenáza u koní, ktorý katalyzuje reverzibilnú oxidáciu alkoholu na aldehyd. Nachádza sa aj v DNA a RNA polymeráze. Tiež bolo zistené, že dokáže veľmi ľahko substituovať ostatné bivalentné katióny nachádzajúce sa v proteínoch [25].

Je to striebroslklý, mäkký a neušľachtilý kov. Obsah zinku v zemskej kôre je približne 76 ppm, v prírode sa vyskytuje len vo forme zlúčenín. Vzdušným kyslíkom sa na povrchu oxiduje už za laboratórnej teploty. Priemyselne sa zinok získava vo viacerých krokoch. Najprv sa minerál smithsonit ( $ZnCO_3$ ) prevedie na oxid, z ktorého sa potom získa kov po rozpustení v kyseline sírovej elektrolyticky, takto pripravený produkt sa čistí vákuovou destiláciou. Zinok sa používa ako antikorozívna vrstva k ochrane železa, k výrobe suchých článkov a množstva zlatin [21].

### 2.10.9 Železo

Telo dospelého človeka obsahuje asi 4-6 g železa, pričom 75 % pripadá na hemoglobín a 25 % je v zásobných bielkovinách. Bielkoviny obsahujúce železo saúčastnia predovšetkým transportu, skladovania kyslíka a prenosu elektrónov. Delíme ich na 2 skupiny, na tie ktoré obsahujú porfyrinový komplex (hemoglobín) a tie, ktoré ho neobsahujú (transferrín, ferritín). Myoglobín obsahuje jednu hemovú skupinu a viaže v bunkách kyslík, pred jeho spotrebovaním. Hemoglobín je obsiahnutý v červených krvinkách a zaisťuje transport kyslíka z pľúc do svalov, kde ho predáva myoglobínu. V cytochrómoch je koordinácia železa analogická ako v hemoglobíne, ale ich základnou funkciou je prenos elektrónov v priebehu oxidácie glukózy dikyslíkom. Transferrín prenáša železo vo forme  $Fe^{3+}$  do miest kde je využívané alebo do kostnej drene (uskladnenie) [21].

Je to štvrtý najrozšírenejší prvok v zemskej kôre a vďaka stálosti atómového jadra je aj značne rozšírený aj vo vesmíre. Čisté železo je až do teploty 768 °C feromagnetické. V jemnej práškovitej forme je samozápalné, pri vyšších teplotách reaguje s mnohými kovmi

aj nekovmi. Veľkým problémom je z ekonomického a technického hľadiska jeho korózia spôsobená vzduchom, ktorý obsahuje aspoň 50 % vlhkosti. Proti hrdzaveniu sa dá pôsobiť pokovovaním povrchu ušľachtilejšími kovmi alebo pasiváciou (ponorením do kyseliny dusičnej). Priemyselne sa železo vyrába vo vysokých peciach, kde dochádza k redukcii jeho kyslíkatých rúd (hematit) uhlíkom. Železo a jeho zliatiny používajú prakticky vo všetkých odvetiach priemyslu [20] [21].

### 3 PRAKTICKÁ ČASŤ

#### 3.1 Použité vzorky

Na stanovenie nutričných hodnôt boli použité tri vzorky hmyzu konkrétne určeného na konzumáciu ľuďmi. Boli to červy, cvrčkovia a kobylky, všetky od Britskej firmy. Vzorky boli od výrobcu vysušené, po otvorení balíkov boli skladované v chladničke. Všetky analýzy boli prevedené počas jedného mesiaca od otvorenia, výrobca totiž uvádza, že po otvorení je potrebné hmyz do uplynutia tejto doby skonzumovať.



Obrázok 5: Použité vzorky

#### 3.2 Použité laboratórne vybavenie, pomôcky a prístroje

- bežné laboratórne sklo
- predvážky A&D EK-600H (A&D INSTRUMENTS LTD., Anglicko)
- analytické váhy BBL32 (Boeckel + Co., Nemecko)
- mineralizačná jednotka KT-8s (C. GERHARDT GMBH & CO. KG, Nemecko)
- ICP-OES Horiba Jobin Yvon, typ Ultima 2 (Horiba, Francúzsko)
- sušiareň Memmert UFE550 (Memmert, Nemecko)
- muflová pec Veb Elektro Bad Frankenhausen (MLW – VEB ELEKTRO BAD FRANKENHAUSEN, Nemecko)
- aparátúra na extrakcie zložená z extraktoru, chladiča a topného hniezda
- Parnas – Wagnerov destilačný aparát
- automatické pipety, špičky (Finnpipette, Fínsko)
- chladnička (Electrolux, Česko)
- laboratórna čistiaca jednotka ELGA

#### 3.3 Použité chemikálie

- kyselina sírová 96 %, (Lach-Ner, Nemecko)
- hydroxid sodný, (Mach chemikálie, Česko)



- fenolftalein (1%)
- Tashiro indikátor
- ultračistá voda
- Weinigerov katalyzátor (90 g síranu sodného, 7 g síranu ortuťnatého, 1,5 g síranu meďnatého a 1,5 g selenu)
- diethyléter (Lach-Ner, Nemecko)
- viacprvkový vodný certifikovaný referenčný materiál ASTASOL – MIX AN9090MN (ANALYTIKA spol. s.r.o., Česko)
- viacprvkový vodný certifikovaný referenčný materiál ASTASOL – MIX CZ9097MN1 (ANALYTIKA spol. s.r.o., Česko)

Tabuľka 1: Technické parametre ICP-OES<sup>32</sup>

Generátor	rádiová frekvencia 40,68 Mhz
Chladiaci systém:	typ GenCo pre chladenie generátoru a cievky
Odsávanie:	priame napojenie na plazmovú komoru
Čerpadlo:	3-kanálová peristaltická pumpa
Zmlžovacia komora	cyklonová, zmlžovač typu Meinhard
Plazma:	priemer vstrekovacej trysky 3 mm prietok plazmového plynu 12,5 l/min prietok nosného plynu 0,4 l/min; 0,6 l/min plne demontovateľný horák
Optický systém	termoregulovateľný ohnisková vzdialenosť 1 m optická mriežka s rozlíšením 2400 g/mm optické rozlíšenie < 5 pm pre 160 – 320 nm a < 10 pm pre 320 – 80 nm
Vlnová dĺžka:	160 – 800 nm
Detekcia	dual PMT s HDD® systémom
Príslušenstvo	zvlhčovač argónu, autosampler AS-500

- pozn. k tabuľke: u prietoku nosného plynu sú uvedené 2 hodnoty, nakoľko pri stanovení makroprvkov bol prietok 0,6 l/min a pri mikroprvkoch 0,4 l/min

### 3.4 Roztoky

#### 3.4.1 Stanovenie hrubej bielkoviny

Pre stanovenie hrubej bielkoviny podľa Kjeldala bolo potrebné pripraviť 33 % a 0,1 M roztok hydroxidu sodného, roztok 0,05 M kyseliny sírovej už bol nachystaný. Na prípravu 300 ml 33 % roztoku bolo 99 g hydroxidu sodného rozpusteného v 201 ml destilovanej vody. Pre prípravu 300 ml 0,1 M roztoku boli navážené približne 1,2 g NaOH. Roztok H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> aj 0,1 M NaOH boli pred meraním štandardizované. 33 % roztok hydroxidu nebolo potrebné štandardizovať, nakoľko sa ho do destilačnej banky pridáva nadbytok, čo je možné vizuálne potvrdiť (fialové sfarbenie) a slúži len na uvoľnenie amoniaku zo síranu amónneho za vzniku síranu sodného.

### 3.4.2 Prvková analýza

Na prvkovú analýzu bolo potrebné nachystať dva roztoky štandardov. Na stanovenie makroprvkov bol 1 ml štandardu 1 pipetovaný do 10 ml odmernej banky a doplnený po značku. Štandard mikroprvkov bol pripravený rovnako ale bol použitý štandard 2 (viz. tabuľka č. 3). Obsah stanovovaných prvkov spolu s neistotami je uvedený v tabuľke č. 3.

Tabuľka 2: Koncentrácie prvkov v štandardných roztokoch

Štandard 1 (nezriedený)			Štandard 2 (nezriedený)		
prvok	koncentrácia [mg·l <sup>-1</sup> ]	matrica	prvok	koncentrácia [mg·l <sup>-1</sup> ]	matrica
Ca	100 ± 0,2	1 % (obj. %) HNO <sub>3</sub>	Cu	100 ± 0,2	5 % (obj. %) HNO <sub>3</sub>
K	100 ± 0,2		Fe	100 ± 0,2	
Mg	100 ± 0,2		Mn	100 ± 0,2	
Na	100 ± 0,2		Zn	100 ± 0,2	
P	100 ± 0,2				
S	100 ± 0,2				

### 3.5 Mineralizácia

Vzorky boli mineralizované podľa Kjeldahla v mineralizačnej jednotke KT-8s. Jeden gram vzorky (s presnosťou na tri desatinné miesta) bol kvantitatívne prevedený do mineralizačnej trubice. Pri stanovení hrubej bielkoviny boli pridané 2 g Weinigerovho katalyzátoru, pri prvkovej analýze bol tento krok vynechaný z dôvodu zkrasenia dát. Bolo pridaných 10 ml koncentrovanej kyseliny sírovej a mineralizačné trubice vložené do stojana. Mineralizácia prebiehala podľa prednastaveného programu. Proces mineralizácia popisuje tabuľka č. 2.. Po ukončení programu bolo do trubíc napipetovaných 20 ml vody. V prípade stanovenia bielkovín to bola destilovaná voda, v prípade ICP-OES to bola deionizovaná voda. Vodu tam bola pridaná kvôli rozpusteniu zrazeniny vzniknutého síranu amonného, aby bolo možné mineralizát kvantitatívne previezť do odmernej banky.

Tabuľka 3: Postup mineralizácie

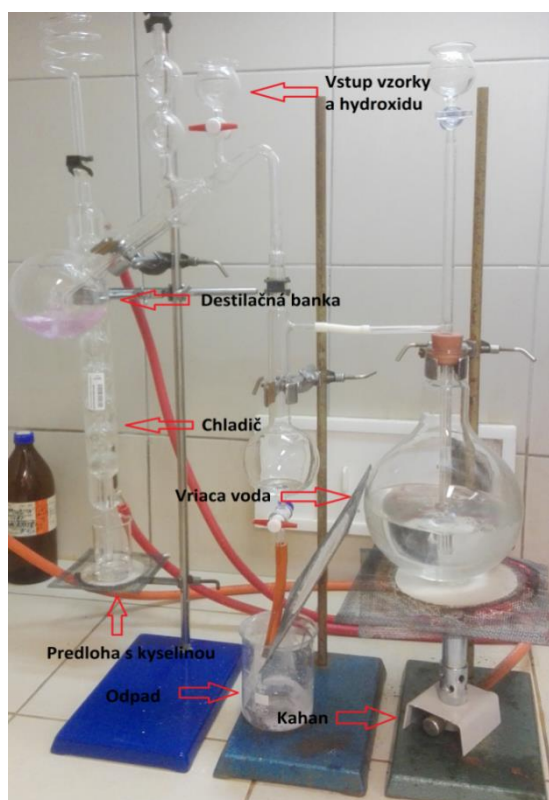
krok č.	priebeh	Čas [h]
1	zahrievanie na 400 °C	1
2	mineralizácia pri 400 °C	1,5
3	chladenie v mineralizátore	0,5
4	chladenie na laboratórnu teplotu	0,5
	celkový čas	3,5



Obrázok 6: Mineralizačná jednotka KT-8s

### 3.6 Stanovenie hrubej bielkoviny podľa Kjehladala

Mineralizát z bodu 3.4 bol kvitatatívne prevedený do odmernej banky na 100 ml a doplnený vodou po značku. Z nej bolo pipetovaných 10 ml do odmernej banky na 50 ml, banka bolo doplnená vodou po značku. Nakoniec bolo odpipetovaných 10 ml do destilačnej banky Parnas – Wagnerovej destilačnej aparatury a pridané 3 kvapky roztoku fenolftaleínu. Deliacou nálevkou bol potom pridaný 33 % hydroxid sodný, do fialového sfarbenia. Do predlohy bolo napipetovaných 25 ml štandardizovaného roztoku kyseliny sírovej. Uvolnený amoniak bol predháňaný vodnou parou do predlohy. Koniec chladiča bol umiestnený až na dno predlohy. Po 25 minútach destilácie bola predloha znížená (tak, aby do nej nezasahoval chladič) a destilovalo sa ešte 5 minút. Potom bol vývod chladiča opláchnutý destilovanou vodou a destilácia bola ukončená. Do predlohy boli pridané 3 kvapky Tashirovho indikátoru a titrovalo sa štandardizovaným odmerným roztokom hydroxidu sodného do trvalého žltého sfarbenia. Zo spotreby hydroxidu a vynásobením univerzálnym faktorom bol zistený obsah hrubej bielkoviny vo vzorke. Každá vzorka bola mineralizovaná a destilovaná 2 krát, teda dohromady bolo prevedených 6 destilácií.



Obrázok 7: Parnas – Wagnerova destilačná aparatura

### 3.7 Prvková analýza

#### 3.7.1 Stanovenie makroprvkov (Ca, K, Mg, Na, P)

Mineralizát z bodu 3.4 bol kvantitatívne prevedený do odmernej banky na 50 ml a doplnený deionizovanou vodou po značku. Z nej bol pipetovaný 1 ml do inej 50 ml odmernej banky a tá bola znova doplnená po značku. Takto zriedený roztok bol pipetovaný do plastovej skúmavky a vložený do držiaku na analýzu ICP-OES. Tiež bol pripravený štandard.

Podmienky analýzy sú uvedené v tabuľke č. 2. Na analýzu bolo celkovo použitých 12 zriedených mineralizátov.



Obrázok 8: Zriedené mineralizáty na stanovenie makroprvkov (predný rad)

### 3.7.2 Stanovenie mikroprvkov (Cu, Zn, Mn, Fe)

Postup bol rovnaký ako v bode 3.6.1 ale 1 ml bol pipetovaný do 25 ml odmernej banky a bola použitá iná zmes štandardov.

### 3.8 Stanovenie celkových lipidov podľa Soxhleta

Vzorka bola zhomogenizovaná v trecej miske a bola navážená určitá hmotnosť. Navážené množstvo bolo kvantitatívne prevedené do extrakčnej patrony, ktorá bola utesnená vatou. Do suchej destilačnej banky bolo vložených niekoľko kúskov pemzy a banka bola zvážená. Potom bolo do banky naliatych asi 150 ml diethyléteri, bola zostavená aparátúra a zahrievalo sa na topnom hniezde tak, aby rozpúšťadlo mierne vrelo. Každá vzorka bola extrahovaná presne 3 hodiny a potom bolo oddestilované rozpúšťadlo. Banka sa potom sušila 30 minút v sušiarňi pri 100 °C a po ochladnutí v exsíkátore bola zvážená.

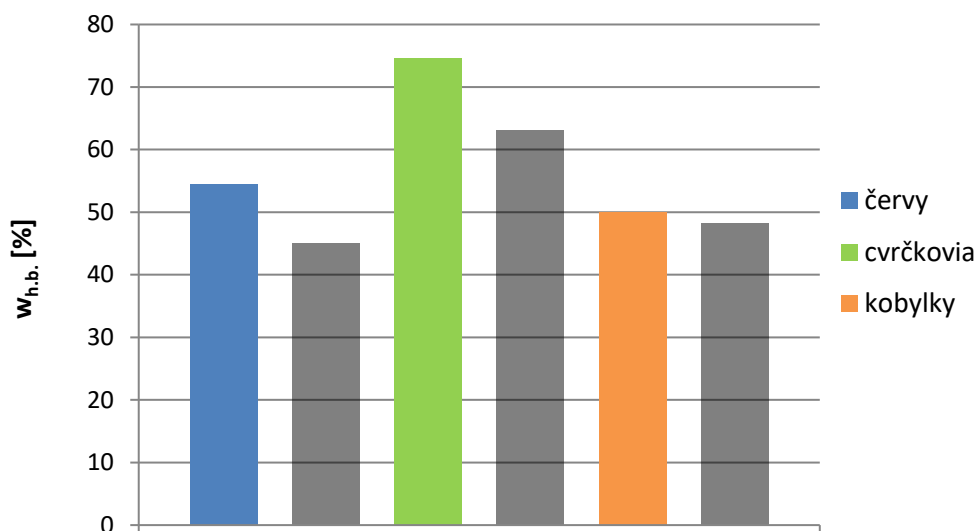
## 4 VÝSLEDKY A DISKUSIA

### 4.1 Stanovenie hrubej bielkoviny

Stanovenie celkového dusíka a hrubej bielkoviny prebiehalo podľa postupu uvedeného v bode 4.6. Výsledky sú uvedené v tabuľke č. 4, pričom sú zapísané jednotlivé spotreby hydroxidu sodného na titráciu nespotrebovanej  $H_2SO_4$  a následne sú uvedené hodnoty celkového dusíka a hrubej bielkoviny, vypočítané z priemernej spotreby.

Tabuľka 4: Spotreby NaOH na titrácie a vypočítané hodnoty dusíka a bielkovín

Vzorka	červy	cvrčkovia	kobylky
$V_1$ NaOH [ml]	22,80	22,30	22,95
$V_2$ NaOH [ml]	22,85	22,45	22,90
$V_\varphi$ NaOH [ml]	22,83	22,38	22,93
Celkový dusík [%]	$8,7 \pm 0,3$	$11,9 \pm 0,8$	$8,0 \pm 0,3$
Hrubá bielkovina [%]	$54 \pm 2$	$75 \pm 5$	$50 \pm 2$
Obsah bielkovín uvádzaných výrobcom [%]	45	63	48



Graf 1: Obsah bielkovín

- poznámka ku grafu: Svetlo čierne stĺpce predstavujú obsah bielkovín uvedených výrobcom, vzorka ku ktorej patria je od nich vždy naľavo. Na ose y je uvedený obsah bielkovín.

V grafe č.1 je vidieť, že vo všetkých troch prípadoch bola experimentálne stanovená hrubá bielkovina vyššia ako uvádza výrobca. Je to pravdepodobne spôsobené tým, že použitá metóda je založená na meraní celkového dusíka, ktorý nemusí byť nutne viazaný len v aminokyselinách, vyššie hodnoty boli očakávané. Predpokladá sa, že výrobca uvádza

hodnoty čistej bielkoviny. Najvyššia hodnota hrubej bielkoviny bola nameraná u cvrčkov a to  $(74 \pm 5) \%$ , resp. gramov na 100 g vzorky.

Tabuľka 5: Obsah bielkovín vo vybraných potravinách a hrubej bielkoviny vo vzorkách<sup>21</sup>

Potravina	m <sub>b</sub> . [g]	Potravina	m <sub>b</sub> . [g]	Vzorky	m <sub>h.b.</sub> [g]
mlieko	11 g	syr cottage	12 g	červy	54 g
špargla	3 g	tuniak	29 g	cvrčkovia	75 g
kuracie prsia	25 g	vajce	12 g	kobylky	50 g
bravčové mäso	27 g	arašidy	24 g		

- poznámka k tabuľke: v prvých dvoch stĺpcoch je uvedená hmotnosť bielkovín v 100 g potravy, v poslednom je uvedená hmotnosť hrubej bielkoviny v 100 g vzorky

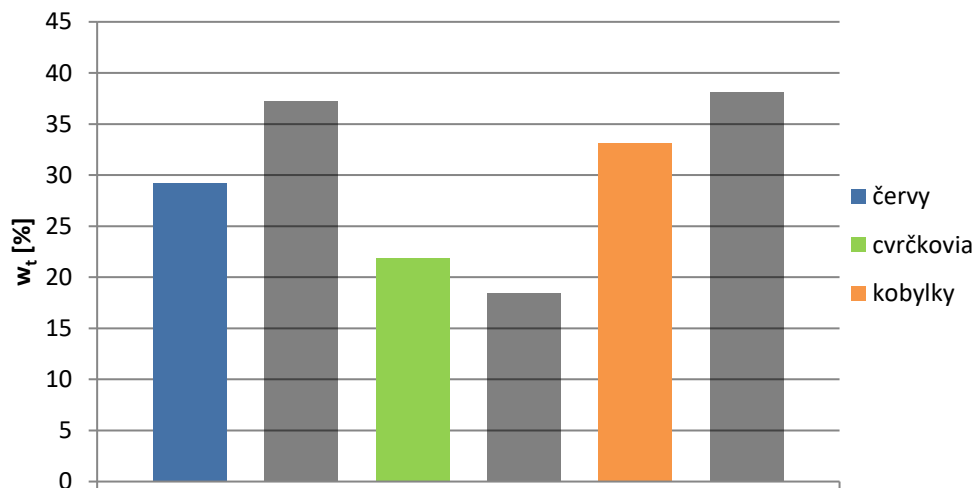
V tabuľke č. 5 je vidieť, že obsah bielkovín vo všetkých troch vzorkách je vyšší ako v bežných potravinách. Samozrejme, tieto hodnoty nie sú plne porovnateľné, nakoľko bola stanovovaná hrubá bielkovina. Zo stanovenia je však jasné, že vzorky jedlého hmyzu sú nutrične veľmi bohaté na bielkoviny.

#### 4.2 Stanovenie celkových lipidov

Stanovenie lipidov bolo prevedené podľa postupu uvedeného v odseku 4.8. Dohromady bolo prevedených 6 extrakcií. Výsledky sú uvedené v tabuľke č. 6, pričom je uvedená hmotnosť navážky jednotlivých vzoriek ( $m_{\text{navážka}}$ ), hmotnosť vypočítaného tuku ( $m_{\text{tuk}}$ ), percentuálne zastúpenie tuku vo vzorke ( $w_{\text{tuk}}$ ), priemer vypočítaný z jednotlivých meraní a nakoniec celkový obsah tukov uvedených výrobcom ( $w_v$ ).

Tabuľka 6: Obsah tuku vo vzorkách a hodnoty uvedené výrobcom

Vzorka	červy		cvrčkovia		kobylky	
Č. merania	1	2	1	2	1	2
$m_{\text{navážka}}$ [g]	2,03	2,01	2,02	2,05	1,04	1,05
$m_{\text{tuk}}$ [g]	0,65	0,53	0,41	0,48	0,36	0,33
$w_{\text{tuk}}$ [%]	32,09	26,31	20,30	23,47	34,72	31,52
Priemer [%]	$29 \pm 4$		$21 \pm 2$		$33 \pm 2$	
$w_v$ [%]	37		19		38	



Graf 2: Obsah lipidov

- poznámka ku grafu: Svelo čierne stĺpce predstavujú obsah tukov uvedených výrobcom, vzorka ku ktorej patria je od nich vždy naľavo. Na ose y je uvedený obsah tukov.

V grafe č. 2 je vidieť, že v prípade červov a kobyľiek bol nameraný nižší obsah tukov ako uvádza výrobca, v prípade cvrčkov bol vyšší. Rozdiely mohli vzniknúť v dôsledku iného postupu, nakoľko existuje veľa možných metód extrakcií. Taktiež mohlo byť použité iné lipofilné rozpúšťadlo ako diethyléter (petrolether, hexan).

Tabuľka 7: obsah tuku vo vybraných potravinách a vzorkách<sup>21</sup>

potravina	mtuk [g]	potravina	mtuk [g]	vzorky	mtuk [g]
mlieko	3	syr cottage	4	červy	29
špargla	<1	tuniak	<1	cvrčkovia	22
kuracie prsia	13	vajce	10	kobyľky	33
bravčové mäso	6	arašidy	50		

- pozn. k tabuľke: hmotnosť tuku je uvedená v gramoch na 100 gramov potraviny

V tabuľke č. 7 je vidieť, že stanovované vzorky obsahujú viac tukov ako potraviny v rovnakej kategórii (viz. kuracie prsia a bravčové mäso). Zvýšený príjem tuku môže viesť k obezite, preto je určitá obozretnosť pri konzumácii na mieste.

### 4.3 Prvková analýza

Prvková analýza bola prevedená podľa postupu uvedeného v bode 4.7. Nastavenie prístroja, pri ktorom prebiehala analýza je uvedené v tabuľke č. 1. Ostatné prvky stanovované neboli, nakoľko nebola získaná dost' silná odozva (mikroprvky) a naopak stanovenie biogénnych prvkov ako C,S,P by nemalo veľký zmysel, nakoľko sa jedná o organický materiál ktorý samozrejme obsahuje ich vysokú koncentráciu. Pri stanovení mikroprvkov (Cu,

Fe, Mn, Zn) bolo potrebná mineralizát zriediť menej, aby bola koncentrácia stopových prvkov merateľná. Výsledky stanovenia sú uvedené v tabuľkách č. 8 až 10 a grafoch č. 3,4.

Tabuľka 8 : Namerané hodnoty koncentrácie vybraných prvkov u červov

<b>Koncentrácia [mg·kg<sup>-1</sup>]</b>									
<b>Prvok</b>	<b>Meranie 1</b>			<b>Meranie 2</b>			<b>Priemer</b>		
<b>Ca</b>	595	±	23	987	±	28	792	±	277
<b>K</b>	5793	±	41	5320	±	34	5557	±	334
<b>Mg</b>	1345	±	27	1637	±	31	1491	±	206
<b>Na</b>	1272	±	35	1382	±	4	1327	±	78
<b>P</b>	7002	±	86	7515	±	49	7258	±	362
<b>Cu</b>	14	±	3	41	±	4	28	±	19
<b>Fe</b>	52,3	±	0,9	45,4	±	1,2	49	±	5
<b>Mn</b>	5,4	±	0,7	10,0	±	0,1	8	±	3
<b>Zn</b>	98,2	±	1,5	144	±	3	122	±	33

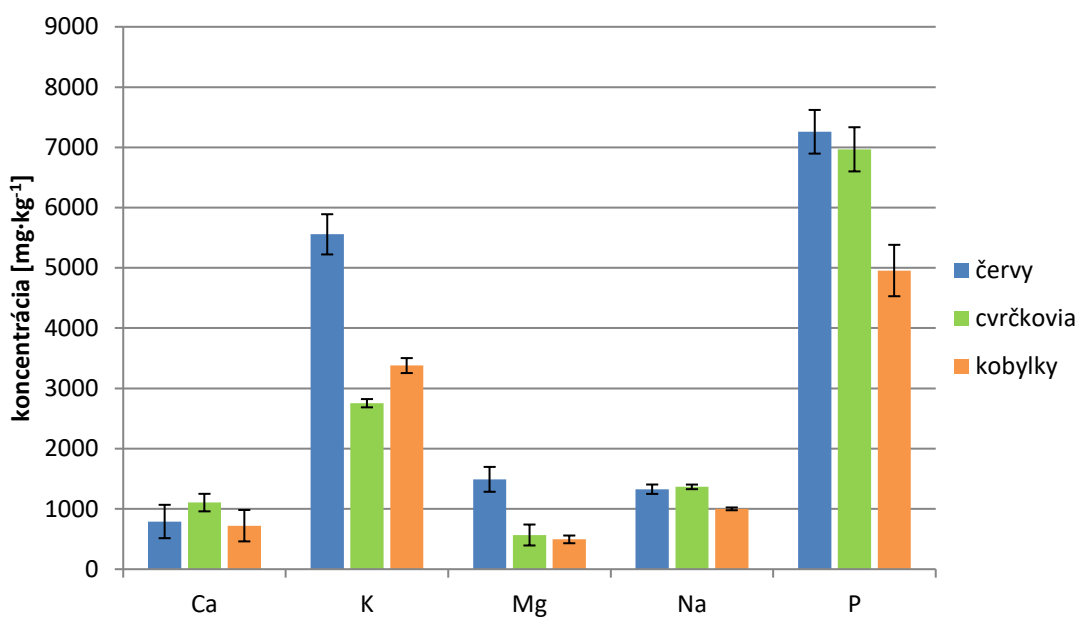
Tabuľka 9 : Namerané hodnoty koncentrácie vybraných prvkov u cvrčkov

<b>Koncentrácia [mg·kg<sup>-1</sup>]</b>									
<b>Prvok</b>	<b>Meranie 1</b>			<b>Meranie 2</b>			<b>Priemer</b>		
<b>Ca</b>	1002	±	17	1208	±	78	1105	±	145
<b>K</b>	2803	±	38	2706	±	22	2754	±	69
<b>Mg</b>	444	±	3	690	±	13	567	±	174
<b>Na</b>	1339	±	18	1393	±	26	1366	±	38
<b>P</b>	6708	±	35	7226	±	90	6967	±	367
<b>Cu</b>	23	±	4	36	±	6	30	±	9
<b>Fe</b>	65	±	3	68,8	±	0,8	67	±	3
<b>Mn</b>	21,7	±	0,3	28,8	±	0,8	25	±	5
<b>Zn</b>	203	±	7	215	±	3	209	±	8

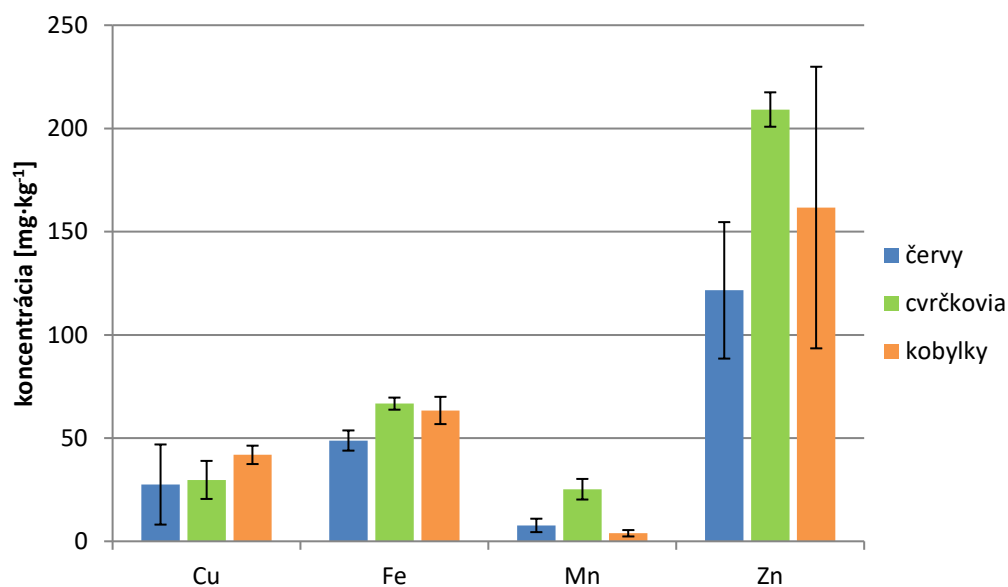
Tabuľka 10: Namerané hodnoty koncentrácie vybraných prvkov u kobyliiek

<b>Koncentrácia [mg·kg<sup>-1</sup>]</b>									
<b>Prvok</b>	<b>Meranie 1</b>			<b>Meranie 2</b>			<b>Priemer</b>		
<b>Ca</b>	905	±	11	537	±	30	722	±	261
<b>K</b>	3466	±	64	3291	±	97	3379	±	124
<b>Mg</b>	449	±	8	540	±	12	495	±	64
<b>Na</b>	1017	±	9	985	±	1	1001	±	23
<b>P</b>	4654	±	7	5257	±	72	4956	±	426
<b>Cu</b>	45	±	3	39	±	2	42	±	5
<b>Fe</b>	68	±	6	58,7	±	0,4	63	±	7
<b>Mn</b>	2,8	±	0,1	5,0	±	0,1	3,9	±	1,5
<b>Zn</b>	113,5	±	0,9	210	±	5	162	±	68





Graf 3: Priemerné koncentrácie vybraných makroprvkov



Graf 4: Priemerná koncentrácia vybraných stopových prvkov

V grafe č. 3 je vidieť, že najvyššie koncentrácie boli namerané u fosforu a draslíku, pričom žiadne stanovenie nebolo zaťažené významnejšou chybou. Naproti tomu stanovenie mikroprvkov (graf č. 4), bolo u niektorých prvkov zaťažené vyššou chybou. Boli to hlavne tieto stanovenia: meď u červov, zinok u červov a kobyľiek. Je to pravdepodobne spôsobené tým, že sa jedná o stopové prvky, teda aj veľmi malá kontaminácia môže významne skresliť výsledky. Vo vzorkách boli namerané najvyššie koncentrácie zinku a železa.

Tabuľka 11 : Obsah minerálov vo vybraných druhoch potravín, stanovovaných vzorkách a doporučená denná dávka<sup>29</sup>

prvok	koncentrácia [mg·kg <sup>-1</sup> ]												DDD [mg/deň]
	vybrané potraviny									stanovované vzorky			
	mlieko	mandle	orechy	ovocie a zelenina	ryby	mäso	cereálie	múka	doplňky stravy	červy	cvrčkovia	kobylky	
Ca	1200	2400	1400	-	-	-	-	-	467	791	1105	722	700
K	1450	-	-	2600	2700	3000	-	-	200	5557	2754	3379	3500
Mg	<280	<500 <sup>28</sup>		2000	-	-	<100 <sup>28</sup>	-	750**	1491	567	495	300*
Na	3230 <sup>30</sup>	-	-	1320 <sup>30</sup>	4010 <sup>30</sup>	5900 <sup>30</sup>	2450 <sup>30</sup>	-	-	1327	1366	1001	1600
P	>900	-	-	-	4000	1600	>900	-	1100**	7258	6967	4956	550*
Cu	-	-	8	-	-	4	-	2	1	28	30	42	1
Fe	-	-	-	-	-	-	95	17	-	49	67	63	7*
Mn	-	-	15	2	-	-	7	8	-	8	25	4	4
Zn	-	-	-	<10 <sup>28</sup>	<10 <sup>28</sup>	18 <sup>28</sup>	-	-	5	122	209	162	8*

\*uvedená hodnota doporučenej dennej dávky je stanovená pre dopelých mužov, zvyšné hodnoty sú pre obe pohlavia

\*\*uvedené hodnoty sú v miligramoch na jeden deň, zvyšné hodnoty sú v miligramoch na jednu tabletku

Je samozrejmé, že v rôznych druhoch potravín sa obsah minerálov líši (napríklad hovädzie a kuracie maso), uvedené hodnoty predstavujú priemer zistený z literatúry. Uvedená koncentrácia je v miligramoch prvku na kilogram potraviny. Ako doplnky stravy sú myslené tabletky obsahujúce daný minerál alebo ich zmes, pričom uvedené hodnoty predstavujú najbežnejšiu koncentráciu.

Doporučená denná dávka **vápnika** sa môže v závislosti na pohlaví a veku značne líšiť. Vyšší príjem je doporučený hlavne pre deti a dojčiace matky. Najvyššia hodnota bola nameraná vo vzorke cvrčkov a to  $(1105 \pm 145) \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ . Všetky uvedené potraviny obsahujú vyššiu koncentráciu vápnika, takže môžeme prehlásiť, že červy, cvrčkovia ani kobyľky nie sú významným zdrojom tohoto prvku [29].

Značne vysoké hodnoty koncentrácie **draslíka** boli namerané vo vzorke červov a to  $(5557 \pm 334) \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , pričom doporučená denná dávka je  $3500 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ . Táto hodnota je vyššia ako u všetkých uvedených potravín, červy teda sú významný zdroj draslíka [29].

**Horčík** je nutný kofaktor v množstve enzymatických systémov. Najvyššia zistená hodnota bola u červov a to  $(1491 \pm 206) \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , pričom táto hodnota je nižšia ako u ovocia a zeleniny. Nie sú zaznamenané žiadne negatívne efekty spôsobené nadmerným príjmom Mg [29] [28].

**Sodík** je konzumovaný celosvetovo hlavne vo forme NaCl, pričom sa dnes konzumuje vysoko nad limit a to až 9000 mg za deň, pričom doporučená dávka sodíka je 1600 mg za deň a chlór 2500 mg za deň. Najvyššia koncentrácia bola stanovená u cvrčkov a to  $(1366 \pm 38) \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , táto hodnota je oproti obsahu sodíku v mäse a rybách oveľa nižšia, takže by aj toto mohla byť cesta ku zníženiu príjmu sodíka [29] [30].

**Fosfor** sa vo vzorkách nachádza hlavne vo forme fosfolipidov, zistené hodnoty boli vyššie ako u uvedených potravín. Všetky vzorky hmyzu sú teda významným zdrojom fosforu. Najvyššia hodnota bola nameraná u červov a to  $(7258 \pm 362) \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ . Literatúra spája možné toxické účinky fosforu s príjmom jeho foriem, ktoré sa prirodzene nevyskytujú v potravinách, jeho zvýšený príjem by teda nemal mať žiadne negatívne účinky [29].

Funkcia **medi** v našom tele sa spája hlavne s oxidatívnymi enzýmami. Aj keď sú prípady akútnej intoxikácie meďou vzácné, isté zdravotné komplikácie sú známe (vracanie, hnačka atď.). Určitá obozretnosť pri konzumácii hmyzu je teda na mieste, nakoľko boli pri všetkých vzorkách namerané oveľa vyššie hodnoty ako pri iných druhoch potravín. Najvyššia koncentrácia bola u kobyľiek a to  $(42 \pm 5) \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , pričom doporučená denná dávka je 1 mg za deň [29].

**Železo** má v našom organizme nezanedbateľnú funkciu v hemových enzýmoch. Najvyššiu hodnotu bola nameraná u cvrčkov a to  $(67 \pm 3) \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ . Sú zaznamenané prípady akútnych aj chronických problémov spojených s nadmernou konzumáciou železa. Akútne sa vyskytujú hlavne u detí, po konzumácii doplnkov stravy určených pre dospelých. Konzumácia železa v množstve približne  $1400 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  živej hmoty sa považuje za smrteľnú pre dospelého jedinca [29].

Glykozyly transferázy sú špecificky aktivované **mangánom**. Značne vyššia hodnota ako v ostatných vzorkách bola stanovená u cvrčkov a to  $(25 \pm 5) \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ . Táto hodnota je vyššia ako vo všetkých ostatných uvedených potravinách, ale toxické účinky mangánu sú spájané s inými formami expozície ako v potrave (baníci, opakované pitie kontaminovanej vody). Tieto účinky predstavujú predovšetkým neurotoxickú poruchu podobnú Parkinsonovej chorobe [29].

**Zinok** hrá kľúčovú úlohu v syntéze a stabilizácii genetického materiálu. Najvyššia koncentrácia zinku bola stanovená u cvrčkov a to  $(209 \pm 8) \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ . Vo všetkých troch vzorkách bola nameraná vyššia koncentrácia ako v bežných potravinách. Môžeme teda povedať, že hmyz je významný zdroj zinku. Nedostatok zinku môže spôsobiť problémy v prenatálnom vývoji, ktoré môžu zapríčiniť mentálnu a fyzickú retardáciu. Akútna intoxikácia sa prejavuje bolesťou brucha, nevoľnosťou a vracaním [29].

## 5 Záver

V tejto práci bol diskutovaný nutričný význam jedlého hmyzu. Aj keď sa tento typ potravy môže zdať vzdialený, v poslednej dobe sa dostáva do popredia. Pri správnom chove môže predstavovať významný zdroj obživy.

Experimentálna časť bola zameraná na stanovenie obsahu hrubej bielkoviny, celkových tukov a koncentracii vybraných prvkov. Kjeldahlovou metódou bol stanovený bielkovinný dusík a po vynásobení univerzálnym faktorom 6,25 aj hrubá bielkovina. Najvyšší obsah dusíka bol nameraný u vzorky cvrčkov a to  $(11,9 \pm 0,8) \%$  čo odpovedá obsahu bielkovín  $(75 \pm 5) \%$ . Celkový obsah lipidov bol stanovený extrakciou podľa Soxhleta, s použitím diethyléteru ako rozpúšťadla. Najvyšší obsah tukov bol stanovený u kobyliiek a to  $(33 \pm 2) \%$ . Metódou ICP-OES sme zistili, že z makroprvkov obsahujú vzorky vyššie koncentrácie fosforu a draslíka. Z mikroprvkov železo a zinok.

Na základe prevedených analýz sa nutrične najvýznamnejšie javia cvrčkovia, nakoľko obsahujú najvyššiu koncentráciu bielkovín, najnižšiu koncentráciu tukov a najvyššiu koncentráciu vápnika, mangánu a zinku, čo sú pre telo nepostradateľné prvky. Na Českom trhu (Penny Market) sa nedávno začal predávať chleba upečený z múky obsahujúcej 10 % cvrčkov, čo len potvrdzuje nutričnú atraktivitu cvčkov.

Aby mohla byť potravina zaradená na Európsky trh ako nová potravina (legislatíva EÚ č. 2015/2283) musí spĺňať tieto požiadavky:

- na základe dostupných vedeckých dôkazov nepredstavuje uvedená potravina žiadne bezpečnostné riziko pre ľudské zdravie
- zamýšľané použitie potravy neuvádza spotrebiteľa v omyl, hlavne pokiaľ je určená aby nahradila inú potravinu
- ak je uvedená potravina určená k tomu, aby nahradila inú potravinu, neodlišuje sa od nej tak, aby jej bežná spotreba bola pre spotrebiteľa z hľadiska výživy menej prospešná

Uvedená kritéria platia aj pre jedlý hmyz, nakoľko sa radí medzi tzv. nové potraviny.

Výsledky ukázali, že hmyz by skutočne mohol predstavovať významný druh potravy. Najprv je však nutné prekonať určitú psychickú bariéru voči jeho konzumácii, vyplývajúcu z našej kultúry. Možno práve táto bakalárska práca dodá niektorým váhajúcim ľuďom odvalu, aby hmyz aspoň ochutnali.

## 6 ZOZNAM POUŽITÝCH ZDROJOV

- [1] VODRÁŽKA, Zdeněk. *Biochemie*. 2. opr. vyd. Praha: Academia, 1996. ISBN 8020006001.
- [2] HUIS, Arnold van. *Edible insects: future prospects for food and feed security*. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2013. FAO forestry paper, 171. ISBN 978-92-5-107595-1.
- [3] GULLAN, P. J. a P. S. CRANSTON. *The insects: an outline of entomology*. Fifth edition. Hoboken, NJ: John Wiley, 2014. ISBN 978-1-118-84615-5.
- [4] GILBERT, Lawrence I., ed. *Insect molecular biology and biochemistry*. Amsterdam: Elsevier, 2012. ISBN 978-0-12-384747-8.
- [5] Risk profile related to production and consumption of insects as food and feed. *EFSA Journal* [online]. 2015, 13(10), 4257- [cit. 2017-11-17]. DOI: 10.2903/j.efsa.2015.4257. ISSN 18314732. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.2903/j.efsa.2015.4257>
- [6] VAN BROEKHOVEN, S., J. Mota GUTIERREZ, T.C. DE RIJK, W.C.M. DE NIJS a J.J.A. VAN LOON. Degradation and excretion of the Fusarium toxin deoxynivalenol by an edible insect, the Yellow mealworm (*Tenebrio molitor* L.). *World Mycotoxin Journal* [online]. 2017, 10(2), 163-169 [cit. 2017-11-19]. DOI: 10.3920/WMJ2016.2102. ISSN 1875-0710. Dostupné z: <http://www.wageningenacademic.com/doi/10.3920/WMJ2016.2102>
- [7] SOBROVA, Pavlina, Vojtech ADAM, Anna VASATKOVA, Miroslava BEKLOVA, Ladislav ZEMAN a Rene KIZEK. Deoxynivalenol and its toxicity. *Interdisciplinary Toxicology* [online]. 2010, 3(3), - [cit. 2017-11-19]. DOI: 10.2478/v10102-010-0019-x. ISSN 1337-9569. Dostupné z: <http://www.degruyter.com/view/j/intox.2010.3.issue-3/v10102-010-0019-x/v10102-010-0019-x.xml>
- [8] SERRANO, S., F. RINCÓN a J. GARCÍA-OLMO. Cereal protein analysis via Dumas method: Standardization of a micro-method using the EuroVector Elemental Analyser. *Journal of Cereal Science* [online]. 2013, 58(1), 31-36 [cit. 2017-11-29]. DOI: 10.1016/j.jcs.2013.04.006. ISSN 07335210. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0733521013000787>
- [9] BENDER, David A. *Nutritional biochemistry of the vitamins*. 2nd ed. New York, N.Y.: Cambridge University Press, c2003. ISBN 0521803888.
- [10] JENSEN, William B. The Origin of the Soxhlet Extractor. *Journal of Chemical Education* [online]. 2007, 84(12), 1913- [cit. 2017-11-30]. DOI: 10.1021/ed084p1913. ISSN 0021-9584. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ed084p1913>
- [11] HÁLKOVÁ, Jana, Marie RUMÍŠKOVÁ a Jana RIEGLOVÁ. *Analýza potravin*. 2. vyd. Újezd u Brna: I. Straka, 2001. ISBN 80-86494-02-0.
- [12] GÜNZLER, Helmut. a Alex. WILLIAMS. *Handbook of analytical techniques*. New York: Wiley-VCH, c2001. ISBN 35-273-0165-8.
- [13] ROBERT A. MEYERS. *Encyclopedia of analytical chemistry*. [Online ed.]. Hoboken: John Wiley, 200un. 1. ISBN 9780470027318.

- [14] TANG, W. Joyce, Javier G. FERNANDEZ, Joel J. SOHN a Chris T. AMEMIYA. Chitin Is Endogenously Produced in Vertebrates. *Current Biology* [online]. 2015, 25(7), 897-900 [cit. 2017-12-21]. DOI: 10.1016/j.cub.2015.01.058. ISSN 09609822. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960982215000901>
- [15] SAHOO, Debasish, Sarmila SAHOO, Priyanka MOHANTY, S. SASMAL a P. L. NAYAK. Chitosan: a New Versatile Bio-polymer for Various Applications. *Designed Monomers & Polymers* [online]. 2009, 12(5), 377-404 [cit. 2017-12-22]. DOI: 10.1163/138577209X12486896623418. ISSN 1385772x. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1163/138577209X12486896623418>
- [16] VELÍŠEK, Jan a Jana HAJŠLOVÁ. *Chemie potravin*. Rozš. a přeprac. 3. vyd. Tábor: OSSIS, 2009. ISBN 978-80-86659-17-6.
- [17] RAMOS-ELORDUY, Julieta. Threatened edible insects in Hidalgo, Mexico and some measures to preserve them. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* [online]. 2006, 2(1), 51- [cit. 2017-10-18]. DOI: 10.1186/1746-4269-2-51. ISSN 17464269. Dostupné z: <http://ethnobiomed.biomedcentral.com/articles/10.1186/1746-4269-2-51>
- [18] PRÍBELA, Alexander. *Analýza potravín*. Bratislava: Slovenská technická univerzita, 1991. ISBN 80-227-0374-5.
- [19] WESTON, James. Biochemistry of Magnesium. RAPPOPORT, Zvi, ed. *PATAI'S Chemistry of Functional Groups* [online]. Chichester, UK: John Wiley, 2009, 2009-12-15 [cit. 2018-04-16]. DOI: 10.1002/9780470682531.pat0407. ISBN 9780470682531. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/9780470682531.pat0407>
- [20] GREENWOOD, N. N., František JURŠÍK a Alan EARNSHAW. *Chemie prvků*. Praha: Informatorium, 1993. ISBN 80-85427-38-9.
- [21] TOUŽÍN, Jiří. *Stručný přehled chemie prvků*. Brno: Tribun EU, 2008. Knihovnicka.cz. ISBN 978-80-7399-527-0.
- [22] HURLEY, Seth W. a Alan Kim JOHNSON. The biopsychology of salt hunger and sodium deficiency. *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology* [online]. 2015, 467(3), 445-456 [cit. 2018-04-13]. DOI: 10.1007/s00424-014-1676-y. ISSN 0031-6768. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s00424-014-1676-y>
- [23] WILLIAMS, Robert J.P. The evolution of calcium biochemistry. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research* [online]. 2006, 1763(11), 1139-1146 [cit. 2018-04-13]. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2006.08.042. ISSN 01674889. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167488906002540>
- [24] BUTUSOV, M. M. a Arne JERNELÖV. *Phosphorus: an element that could have been called Lucifer*. New York: Springer, 2013. SpringerBriefs in environmental science. ISBN 978-1-4614-6802-8.
- [25] KENDRICK, M. J., M.T. MAY, M. J. PLISHKA a K. D. ROBINSON. *Metals in biological systems*. New York: E. Horwood, 1992. ISBN 0135777275.

- [26] HEANEY, Robert P. Phosphorus Nutrition and the Treatment of Osteoporosis. *Mayo Clinic Proceedings* [online]. 2004, 79(1), 91-97 [cit. 2018-04-16]. DOI: 10.4065/79.1.91. ISSN 00256196. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0025619611632618>
- [27] LINDER, Maria C. a Christina A. GOODE. *Biochemistry of copper*. New York: Plenum Press, c1991. ISBN 0306436582
- [28] World Health Organization. *Vitamin and mineral requirements in human nutrition*. 2nd ed. Rome: FAO, c2004. ISBN 9241546123.
- [29] EXPERT GROUP ON VITAMINS AND MINERALS. *Safe upper levels for vitamins and minerals*. London: Food Standards Agency, 2003. ISBN 1904026117.
- [30] NI MHURCHU, C., C. CAPELIN, E. K. DUNFORD, J. L. WEBSTER, B. C. NEAL a S. A. JEBB. Sodium content of processed foods in the United Kingdom: analysis of 44,000 foods purchased by 21,000 households. *American Journal of Clinical Nutrition* [online]. 2011, 93(3), 594-600 [cit. 2018-04-21]. DOI: 10.3945/ajcn.110.004481. ISSN 0002-9165. Dostupné z: <https://academic.oup.com/ajcn/article/93/3/594-600/4597702>
- [31] GEBHARDT, Susan E. a Robin G. THOMAS. *Nutritive value of foods*. Rev. October 2002. Washington, DC: For sale by the Supt. of Docs., U.S. G.P.O., 2002. ISBN 0-16-051197-6.
- [32] HORIBA SCIENTIFIC, a JOBIN YVON TECHNOLOGY. ULTIMA 2: The Ultimate in ICP-OES. HORIBA: Explore the future [online]. France, 2013 [cit. 2018-04-22]. Dostupné z: <http://www.horiba.com/fileadmin/uploads/Scientific/Documents/Emission/ULTIMA2.pdf>
- [33] ČERNOHORSKÝ, Tomáš a Pavel JANDERA. *Atomová spektroskopie*. Pardubice: Univerzita Pardubice, 1997. ISBN 80-7194-114-X.

## 7 ZOZNAM POUŽITÝCH SKRATIEK

MK	Mastné kyseliny
TAG	Triacylglyceroly
DON	Deoxynivalenol
KM	Kjehladalova metóda
DM	Dumasova metóda
DDD	Doporučená denná dávka
ICP-OES	Optická emisná spektroskopia s indukčne viazaným plazmatom